EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
A.v.MURALT · L.RUZICKA · J.WEIGLE
Bern Zürich Genève
Redactor: P.-D. Dr. H. Mislin, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

Vol. III - Fasc. 11 15. XI. 1947 Fr. 2.—

JAN 15 1948

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

P. A. Chappuis: Speologie 429
E. K. Gabrielsen: Quantum Efficiency in Photosynthesis 439
E. Liebman: The Trephocytes and their Functions 442

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief reports

J. Zemann: Über die Struktur des Pharmakosiderits 452
H. Zbinden und K. Huber: Der Einfluß des elektrischen Ladungszustandes der Trägerfolie auf die elektronenmikroskopische Präparation von Kolloiden 452
J. O'M. Bockris and H. Egan: Preferential Solvation in Mixed Solvents 453
J. O'M. Bockris and B. E. Conway: Hydrogen Overpotential and the Partial Inhibition of the Corrosion of Iron 454
K. H. Meyer, Ed. H. Fischer, B. Bernfeld et A. Staub: Purification et cristallisation de l'α-amylase de salive 455
K. J. Öbrink: On the Electrophoretic Properties of a Purified Enterogastrone Preparation 455
P. Rebuffat et J. Brachet: L'action du chlorure de lithium et du sulfocyanure de sodium sur la viscosité de la nucléohistone et des extraits d'embryons d'Amphibiens 456
P. Bâlint und G. Benkő: Die Verteilung der Na- und Cl-Ionen zwischen Blutserum einerseits, Pleurapunktat, Ascites und Liquor cerebrospinalis andererseits 558
A. Prader: Cytochrom-c-Gehalt der toxisch bedingten Fettleber 459
G. Bodoky: Experimentelle Übertragungsversuche von Darmausscheidungen leberdystrophie- und hepatitis-epidemica-kranker Menschen auf Wellensittiche 460
A. Prader und A. Gonella: Die spektrophotometrische Bestimmung von Cytochrom c im Gewebe (Pro Laboratorio) 962

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Johann Heinrich Lambert, Mathem. Werke, 1. Bd. Herausgegeben von Andreas Speiser. (Orell Füßli, Zürich 1946) (Ref. J. O. Fleckenstein) 464
Heaviside's Operational Calculus Made Easy, by T. H. Turney (Chapman & Hall, London, 1946) (Ref. E. Baldinger) 465
X-Rays in Research and Industry, by H. Hirst (Chapman & Hall, London, 1946) (Ref. E. Baldinger) 465

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Experientia majorum – Max Planck (1858–1947) – International Rheological Congress in Holland – Corrigenda 465/468

DIAZIL

„Der große Vorteil des 4,6-Sulfadimethylpyrimidins gegenüber den meisten andern Sulfanilamidderivaten ist die relativ hohe Wasserlöslichkeit und, was besonders hervorgehoben werden muß, auch die der acetylierten Form. Selbst bei einer sehr hoch dosierten Verabreichung ist ***kein Ausfallen der Substanz in kristalliner Form in den Harnwegen zu befürchten.***"

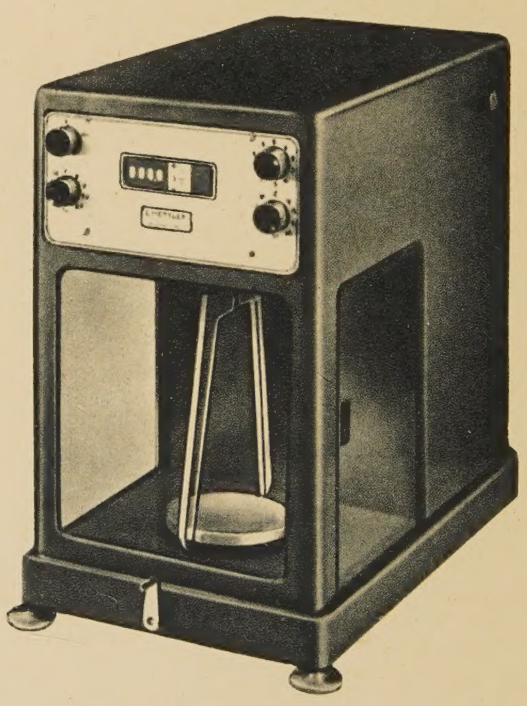
R. Heggli / S. Moeschlin
(Schweiz. Med. Wochenschr. 1944, Nr. 17)

CILAG

SCHAFFHAUSEN

TABLETTEN AMPULLEN AUGENSALBE

PULVIS PRO RECEPTURA



Analysenwaagen (Schnellwaagen)

Maximalbelastung 200 g, optischer Bereich 100 mg
Ablesegenauigkeit je nach Type $^1/_{10}$, $^1/_{20}$ mg

E. METTLER Präzisionsapparate
KÜSNACHT-ZCH. Telephon (051) 91 16 50

EXPERIENTIA

Vol. III - Fasc. 11 Pag. 429–468 15. XI. 1947

Speologie

(Zoologische Speologie)

Von P. A. CHAPPUIS[1], Cluj (Klausenburg)

Die moderne Speologie[2] oder Höhlenwissenschaft befaßt sich mit allen die Höhlen betreffenden Fragen[3]. Es ist ein verhältnismäßig neues Gebiet, besonders der Zweig der sich mit den in Höhlen lebenden Tieren beschäftigt.

Anfänglich von einzelnen Liebhabern betrieben, die sich nur ganz speziellen Studien widmeten, fand sie in dem von E. G. RACOVITZA 1920 gegründeten speologischen Institut in Cluj ein Heim, in welchem Forscher gut ausgerüstete Laboratorien und eine reiche Bibliothek vorfinden können. Da der Leiter und das wissenschaftliche Personal Zoologen sind, ist die Forschungsrichtung am Institut hauptsächlich auf diesem Gebiete tätig. Sie stellten sich zur Aufgabe, erst eine möglichst vollständige Übersicht über alle in Höhlen lebenden Tiere aufzustellen und erst dann, wenn die Höhlen als faunistisch gut bekannt gelten können, zu speziellen Fragen überzugehen.

Es gibt in der zoologischen Speologie zwei prinzipielle Richtungen. Während die eine, die wir extensive Speologie nennen wollen, eben die Aufstellung eines Faunenkatalogs als Erstbedingung für spätere Arbeiten befürwortet, betrachtet die andere, die intensive Speologie, jede Höhle als ein Individuum, das in einzelne Biotope zerfallend, monographisch bearbeitet werden sollte. Beide Richtungen haben ihre Berechtigung, es scheint mir aber, daß die extensive Speologie vorläufig viel fruchtbringender ist als die intensive, da durch den Überblick, den wir auf die Höhlenfauna erhalten, mehr allgemeine Schlußfolgerungen gezogen werden können.

Das Programm des Instituts für Speologie in Cluj ist darum, aus möglichst vielen Höhlen in allen Weltteilen möglichst viel Material zusammenzutragen, das später in großen Serien, nebst allen erhältlichen biologischen Angaben, den Spezialisten zur Bearbeitung nach einheitlichen Gesichtspunkten übergeben werden kann.

So wurden bis 1940, dem Datum, an welchem durch den zweiten Weltkrieg jede Forschungstätigkeit schwer behindert wurde, mehr als 1100 Höhlen in mehr als 1400 Höhlenbesuchen erforscht. Die Resultate der das erbeutete Material bearbeitenden Spezialisten wurden unter dem Sammeltitel Biospeologica in den «Archives de Zoologie expérimentale et générale, Paris» in 67 Arbeiten veröffentlicht (etwa 6000 Druckseiten), die jedoch nur einen kleinen Teil des gesammelten Materials enthalten.

Nur wer schon selbst in die Berge zog, um Höhlen zu besuchen und zu durchforschen, weiß, wieviel Vorbereitung, Mühe und Schweiß in diesen 1400 Höhlenbesuchen steckt. Die Arbeit hat sich aber auch gelohnt, denn die von den Spezialisten veröffentlichten Resultate enthalten den Anfang einer großen Synthese des subterranen Lebensraumes.

Als erstes Resultat ist die Erkenntnis zu nennen, daß viele der in Höhlen lebenden Tiere Relikte sind, d. h. lebende Fossilien aus früheren Zeiten.

Zwar wußte man schon vorher, daß in den Höhlen Relikte lebten, aber in welchen Gruppen solche in größerer Anzahl zu finden waren, woher sie stammten, ob sie sich in der langen Zeit ihres unterirdischen Lebens verändert hätten und viele andere Fragen noch, konnte man nur teilweise und ungenau beantworten.

Zuerst müssen wir präzisieren, was ein Relikt ist. Es sind dies Tiere, die uns aus vergangenen geologischen Perioden erhalten geblieben sind. Ihre Verwandten sind ausgestorben, so daß sie allein dastehen, gleich einem 100jährigen Menschen, der seine Kinder und eventuellen Kindeskinder überlebt und als Fremder unter Fremden weilt. Selbstverständlich gibt es nicht nur in Höhlen solche Relikte. Im Meere z. B. leben

[1] Subdirektor des Speologischen Instituts der Universität Cluj (Rumänien).

[2] Von σπέος = Höhle; diese Bezeichnung ist dem Ausdruck Speläologie vorzuziehen, da sie kürzer und leichter auszusprechen ist.

[3] Zur genaueren Information können folgende Abhandlungen dienen:

P. A. CHAPPUIS, Methodik der Erforschung der subterranen Fauna in: Hb. biol. Arbeitsmeth. (Hg. v. E. ABDERHALDEN), Abt. IX, Teil 7, 161 ff. (Wien u. Berlin 1930). – Die Tierwelt der unterirdischen Gewässer (in: A. THIENEMANN, Die Binnengewässer, Bd. III, Stuttgart 1927).

R. JEANNEL, Faune cavernicole de France (Encyclopédie entomologique, VII, Lechevalier, Paris 1926). – Les fossiles vivants des cavernes (L'avenir de la Science, nouvelle série, No 1, Gallimard, Paris 1943).

G. KYRLE, Grundriß der theoretischen Speläologie (in: Speläologische Monographien, Wien 1923).

E. G. RACOVITZA, Essai sur les problèmes biospéologiques (Biospeologica I, Arch. Zool. exp., 4me sér., Tome 6 [1907]).

B. WOLF, Animalium Cavernarum Catalogus (W. Junk, s'Gravenhage 1934–1937).

einige Tiere, die seit Millionen Jahren sich nicht mehr verändert haben. Sie überlebten die Jura- und Kreideperioden, sahen die Ammoniten die Meere bevölkern und wieder verschwinden, wie auch die großen Saurier sich aus kleinen Anfängen zu ungeahnter Größe entwickeln und wieder gehen. Sie selbst blieben klein, vermehrten sich nicht übermäßig, lebten wie kleine Rentner bescheiden in ihrem Wirkungskreis und machten nie großes Aufsehen.

Die Wassertiere sind viel konservativer als die terrestrischen, wir finden deshalb auf der festen Erde weniger alte Relikte. Erstens deshalb, weil sie erst später entstanden sind, dann auch, weil auf der Erdoberfläche die Lebensbedingungen sich mehr ändern als im Wasser, besonders in den Meeren. Dort herrscht in gewisser Tiefe ein Klima, das sehr gleichmäßig ist. Keine Regen- oder Trockenperioden, Zeiten übermäßiger Wärme oder Kälte. Die Übergänge sind weniger schroff und Strömungen sorgen für eine weite Verbreitung, so daß, wenn an einem Ort die Lebensbedingungen unhaltbar werden, an anderen Orten die schlechte Periode überstanden werden kann. Auf der Erde sind Ausbreitungen und Wanderungen schwieriger, da sie aktiv, sozusagen auf eigenen Füßen vorgenommen werden müssen. Diese Wanderungen, Ausbreitungen können nicht einmal nach Belieben vor sich gehen, denn Tiere, die in feuchten Wäldern leben, können nur in solchen, also Gebirgen entlang wandern; Tiere, die Trockenheit vorziehen, nur in ebenen und trockenen Landstrichen sich ausbreiten. Anders steht es natürlich um die fliegenden Insekten, ihnen stehen selten unüberwindliche Schranken entgegen.

Unter den Relikten, speziell solchen aus Höhlen, finden wir aber keine solchen, die Flügel haben. Allerdings hatten die Höhlenkäfer einmal, vor Zeiten, die Fähigkeit, zu fliegen. Sie haben sie aber verloren, ihre Flügeldecken sind zusammengewachsen und die Flügel zu unbrauchbaren Häutchen entartet.

Die terrestrischen Relikte brauchen, um die ungünstigen Klimaperioden überstehen zu können, einen Ort, wo die Klimaveränderungen der letzten geologischen Perioden sie nicht erreichen konnten. Dieser Ort waren die Höhlen. In diesen sind die täglichen wie auch die jährlichen Temperaturschwankungen unmerklich. Nur in Höhlen und im Erdboden finden wir Klimabedingungen, wie sie das Meer bietet, also beinahe konstante Temperaturen und konstante Umwelt. Nun sind aber die Höhlen meist feucht und kalt, die Höhlentiere, und daher die Relikte, rekrutieren sich deshalb vorzugsweise aus Tiergruppen, die schon während ihres rein oberirdischen Existenzabschnittes feuchte, kühle Orte liebten.

Wir finden in den Höhlen natürlich allerhand Zwischenstadien zwischen dem alten Relikt, das keine Verbindung mehr mit der Oberwelt hat, und dem Tier, das, obwohl es schon als Relikt bezeichnet werden kann, doch noch oberirdisch auftritt. Es möge dies an Beispielen gezeigt werden.

In den Höhlen am Nordrand des Mittelmeeres wie auch in einigen weiter landeinwärts gelegenen finden sich die Höhlenheuschrecken, die den Gattungen *Dolichopoda* und *Troglophilus* angehören. Sie bewohnen die Höhleneingänge wie auch die Tiefe im Innern der Höhlen, wo sie auf Insekten Jagd machen. Denn sie sind Allesfresser, die jedoch Fleisch besonders gerne haben. Sie wurden von CHOPARD[1] bearbeitet.

Wie steht es nun mit der Verwandtschaft dieser Heuschrecken? Beide Gattungen sehen sich ziemlich ähnlich, zeigen aber gar keine Verwandtschaft mit den andern Heuschrecken der europäischen Fauna, sondern es sind die *Dolichopoda* mit den in amerikanischen Höhlen lebenden *Hadenoecus* und die *Troglophilus* mit den asiatischen *Raphidophora*, die auch höhlenbewohnende Arten aufweisen, verwandt. Die Verwandtschaft unserer zwei Gattungen und ihre diskontinuierliche Verbreitung in Europa zeigen, daß es sich hier um Tiere handelt, die früher große Gebiete bewohnt haben mußten. Heute sind die *Dolichopoda* stellenweise in Nordostspanien, Südfrankreich, Korsika, Italien und Sizilien, Dalmatien, Korfu, Griechenland, im westlichen Kleinasien und im Kaukasus zu finden, die *Troglophilus* aber in den Ostalpen, Dalmatien, Serbien, Gegend von Otranto in Italien, Griechenland, Kreta und Kleinasien. Besonders ihr Vorkommen in Korsika und Kreta geben uns einen Hinweis auf die Zeit, zu welcher sie im mediterranen Europa weit verbreitet sein mußten, denn sie konnten diese Orte nur besiedeln, bevor sie Inseln wurden, da unsere Tiere vollständig flügellos sind.

Wenn wir nun bei den Geologen nachfragen, wann Kreta aufhörte, ein Teil des großen ägäischen Kontinentes zu sein, das Kleinasien über die griechischen Inseln mit dem europäischen Festland verband, so müssen wir weit in die Tertiärperiode zurückgehen, in die Zeit des Pliozäns. Die Wirbeltierfauna, die uns als Fossilien aus dieser Zeit erhalten blieb, zeigt, daß das damalige Klima noch warm, ja beinahe tropisch war, denn es lebten auf diesem ägäischen Festland Affen, elefantenähnliche Mastodonten und Dinotherien, dann Rhinozeros und Giraffen, hyänenähnliche Tiere, und das furchtbare Raubtier, der säbelzähnige Tiger.

Korsika löste sich erst später, am Ende der Tertiärperiode, vom Kontinent ab, aber die Verwandtschaft der auf dieser Insel lebenden *Dolichopoda* mit den amerikanischen Höhlenheuschrecken zeigt uns, daß sie auch im Pliozän in Europa vorhanden sein mußten, denn nach dieser geologischen Periode bricht jede Landverbindung mit Nordamerika ab.

Wir wissen nun, daß unsere Höhlenheuschrecken gegen das Ende der weit zurückliegenden Tertiärperiode in einem warmen, feuchten Klima große Ver-

[1] L. CHOPARD, Arch. Zool. exp. *74*, 263 (1931–33).

breitung in Europa genossen. Wie ist es ihnen aber seither ergangen?

In der auf das Tertiär folgenden geologischen Periode kühlte sich das europäische Klima ab, es kamen die Eiszeiten, die an vielen Orten unseren Heuschrecken das Leben unmöglich machten. Zwar gab es in der Mittelmeergegend keine Gletscher, die die Berge mit Eis überzogen, aber die Winter werden gewiß streng gewesen sein, so daß die Tiere, um sich den Unbilden der Witterung zu entziehen, sich während dieser Jahreszeit in den Boden, d. h. Felsspalten und Höhlen verziehen mußten. Während der großen Vereisungen muß das Klima noch feucht gewesen sein, zur Zeit der Interglazialzeiten aber war es trocken. Da gewöhnten sich die Tiere, auch den Sommer über in den Höhlen zu bleiben. Zwar mußten sie dort auf die Wärme verzichten, diese ist aber keine so absolute Notwendigkeit wie die Feuchtigkeit. An besonders vorteilhaften Orten, z. B. in Wäldern, behielten sie ihre oberirdischen Gewohnheiten bei, sie verkrochen sich während des Tages und kamen erst in den warmen Sommernächten heraus und gingen der Nahrungssuche nach.

Leider haben wir, wie übrigens von den meisten Insekten, keine fossilen Reste von Heuschrecken, die die hier wiedergegebenen Vermutungen bestätigen könnten. Das älteste Dokument, das wir über diese Tiere haben, ist eine Zeichnung aus dem Magdalénien, die in einem Bisonknochen eingeritzt ist. Der Fund stammt aus der Grotte des Trois Frères in Südfrankreich. Das seltsame ist nun, daß das abgebildete Tier alle charakteristischen Merkmale der Gattung *Troglophilus* aufweist, die, wie wir gesehen haben, nicht in Frankreich vorkommt, sondern erst vom Trentin und Istrien an ostwärts auftritt. Es liegt somit die Vermutung nahe, daß noch während des Magdalénien, also während der großen Würm-Eiszeit, die mehr als 20000 Jahre weit zurückliegt, *Troglophilus* in den Höhlen Südfrankreichs existiert hat und später aus irgendeinem Grunde ausgestorben ist.

Die Höhlenheuschrecken stehen mit ihrer seltsamen Verbreitung und Verwandtschaft mit amerikanischen Arten nicht allein da. Unter den Tausendfüßlern gibt es eine alte, nur in den Höhlen der Pyrenäen wohnhafte Gattung, *Typhloblaniulus*, die vollständig blind ist. Sie gehört der Familie der *Blaniulidae* an, die viele Tiere umfaßt, die an feuchten Orten in der Erde oder unter Steinen den Tag verbringen, um nachts auf Nahrungssuche zu gehen. Diese besteht aus allen möglichen Abfallstoffen tierischer oder pflanzlicher Herkunft. Viele *Blaniulidae*, die auf der Erdoberfläche leben, sind mit Augen versehen, wieder andere sind blind; den Höhlentieren jedoch fehlen durchwegs die Augen. Über die Verbreitung der Familie sind wir ziemlich gut unterrichtet. Die Mehrzahl der Gattungen und Arten leben in Westeuropa, einige, besonders die Ubiquisten unter ihnen, finden sich auch in Mittel- und Nordeuropa. Eine Art wurde sogar in Nordamerika eingeschleppt und konnte sich dort halten. Die nächsten Verwandten der *Blaniulidae* sind nun nicht in Europa sondern in Nordamerika zu Hause, es sind die *Paraiuliden*. Eine zu den *Blaniulidae* gehörende Gattung, *Isobates*, lebt sogar auf beiden Kontinenten, es sind dies aber reine Bewohner der Erdoberfläche.

Die Arten der Gattung *Typhloblaniulus* sind, wie schon gesagt, meist auf die Pyrenäen beschränkt, und zwar findet man sie dort in jeder Stalaktitenhöhle. Sie sind ein charakteristisches Element der Fauna dieser Gebiete. Außerhalb der Pyrenäen kennt man noch eine Art aus einer Höhle in den benachbarten Cevennen und eine weitere, nicht in Höhlen lebende Art, auf Sardinien. Das Vorhandensein einer engeren Verwandtschaft mit nordamerikanischen Arten einerseits und die Existenz einer Art der Gattung auf Sardinien anderseits zeigt uns, daß, wie die Höhlenheuschrecken, *Typhloblaniulus* ein Relikt aus der Tertiärzeit ist.

Noch eine weitere interessante Eigenschaft der Höhlentiere wurde festgestellt. Es ist dies, daß bei vielen die Geschlechtsreife später eintritt als bei den oberweltlichen Tieren. Das Alter der Tausendfüßler kann an der Anzahl der Körpersegmente, die sie besitzen, erkannt werden. Nun ist festgestellt worden, daß bei den in Höhlen lebenden Arten die Reife erst bei einer größeren Segmentzahl eintritt als bei den nicht in Höhlen lebenden Formen[1].

Diese Neotenie ist eine Neuerwerbung der oberirdischen Tiere, die wahrscheinlich orthogenetisch bedingt ist. Die in den Höhlen lebenden Arten haben diese Weiterentwicklung nicht mitgemacht, weil sie dazu nicht fähig waren oder weil unter dem Einfluß des konservativen Milieus der Höhlen solch eine Neuerung nicht möglich war.

Von vielen Relikten, die in Höhlen leben, kennen wir die ersten Entwicklungsstadien, oder bei solchen, die erst eine Metamorphose durchmachen müssen, die Larvenstadien nicht. So auch bei *Typhloblaniulus*. Zwar kopulieren die Tiere in den Höhlen, wenn sie vollgefressen sind, wie dies öfters in der Nähe der ausgelegten Köder beobachtet werden konnte. Wo aber das Weibchen die Eier ablegt und wo die Tiere ihre ersten Larvenstadien verbringen, ist völlig unbekannt. Unter den Tausenden von gesammelten Tieren waren keine, die diesen Stadien angehörten. Dies kann nicht auf ihre Kleinheit zurückgeführt werden, da die kleinsten gefundenen Larven immerhin schon 33 Segmente aufweisen, und etwa ⅓ der Länge der Erwachsenen haben, die mit 21 bis 35 mm Länge 42–60 Segmente besitzen. Das große Feuchtigkeitsbedürfnis der Tiere wird wohl die Weibchen veranlassen, ihre Eier tief in die Spalten abzulegen, wo sie vor jeder noch so kleinen Änderung der Luftfeuchtigkeit geschützt sind.

In den zwei hier angeführten Beispielen von Relikten wurden nur solche angeführt, die nicht ausschließ-

[1] H. W. Brölemann, Arch. Zool. exp. *52*, 387 (1913).

lich Höhlen bewohnen. Die genaue Untersuchung ihrer Verbreitung und ihrer näheren Verwandtschaft zeigt aber, daß gerade die höhlenbewohnenden Arten schon längst, seit Millionen von Jahren unseren Kontinent bewohnen müssen. Zu solch interessanten Resultaten kann man aber nur gelangen, wenn genügend Material zur Verfügung steht, und dies kann nur die extensive Speologie ermöglichen.

Die Systematik wird von den auf genetischem Gebiet arbeitenden Kollegen meist als ein nun abgeschlossener Wissenszweig, als bloßes Hilfsmittel betrachtet, als Registratur, in welcher jedes Tier seinen Platz erhalten hat, damit man seine Identität feststellen kann. Man kann aber auf Grund der Systematik viel mehr aus der Geschichte einer Tiergruppe herauslesen, als sich auf den ersten Blick vermuten läßt.

Nun ist für eine fruchtbringende Bearbeitung einer Tiergruppe, und sei sie noch so klein, eine Revision aller bekannten Mitglieder dieser Gruppe nach einheitlichen Gesichtspunkten eine absolute Notwendigkeit. So wie der Kartenspieler erst seine Karten ordnet, bevor er zu spielen anfängt, so muß auch der Wissenschaftler erst sein Material ordnen, um eine Übersicht zu erhalten. Die moderne Systematik hat nur geringes Interesse an der Entdeckung von neuen Tieren, solange sie nicht auch in die Systematik am richtigen Orte eingefügt werden können.

Die Zoologie könnte einem riesigen Bau verglichen werden, in welchem die Arten die Ziegelsteine darstellen. Neuentdeckte Arten, die ohne Erörterung ihrer näheren Verwandtschaft in der Zeit und im Raum beschrieben werden, bilden dann wirre Haufen, die am Fuße des Gebäudes auf ihre Einfügung in die Mauerlücken warten. Von Zeit zu Zeit zeigt sich dann ein Wagemutiger, der aus diesem Haufen einige Steine herauswählt, um sie an den geeigneten Platz zu stellen. Solch einen wirren Haufen, und zwar einen bedeutenden, stellten die Höhlenkäfer vor noch nicht langer Zeit dar.

Ende des letzten und am Anfang dieses Jahrhunderts entdeckten die Käfersammler die blinden Höhlenkäfer. Es entstand ein «Run» auf diese Käfer; viele Sammler wollten solche haben und diejenigen die in der Nähe von Höhlengebieten wohnten, und daher selbst sammeln konnten, hatten auf diese Art wertvolles Tauschmaterial. Der Wettlauf nach neuen Arten entartete aber. Viele Sammler, einige löbliche unter ihnen ausgenommen, vertuschten ihre Fundorte, damit sie möglichst lange das Monopol ihrer Arten für den Tauschhandel behalten konnten. Die Neubeschreibungen folgten einander in rascher Folge, nicht immer von kompetenten Fachleuten herausgegeben, und es entstand in der Nomenklatur und in der Systematik solch eine Verwirrung, daß zuletzt eine sichere Bestimmung eines Tieres nicht mehr gut möglich war. Die einzige Erleichterung in all dem Chaos war der Fundort, denn allgemein galt die Annahme, daß jede Höhle ihre eigene Art habe.

Es ist das große Verdienst von Prof. R. Jeannel[1], daß er in mehr als 15jähriger intensiver Arbeit die ganze Systematik dieser Tiere revidiert und neu aufgestellt hat, so daß es jetzt möglich ist, die Gruppen der blinden und halbblinden Höhlenkäfer zu übersehen.

Dabei ist die Systematik nicht Selbstzweck gewesen, sondern nur ein Werkzeug zur Feststellung der Geschichte der verschiedenen Käfergruppen.

Zum voraus muß bemerkt werden, daß die große Masse der Höhlenkäfer zwei ganz verschiedenen Familien angehören, den Karabiden, die Fleischfresser, also Raubtiere sind, und den Silphiden, die als Aasfresser alle faulenden organischen Substanzen lieben.

Wir wollen uns zuerst mit den Karabiden beschäftigen. Die größte Anzahl der in Höhlen lebenden Arten dieser Familie gehören der seit langem schon auf der Erdoberfläche lebenden Unterfamilie der *Trechinae* an. Wir finden im baltischen Bernstein eingeschlossen, *Trechus*arten, die den heutigen Arten identisch sind, ein Zeichen, daß diese Tiere im Alttertiär[2] in fast gleicher Gestalt vorhanden waren wie heute. Die *Trechinae* sind also ganz alte Faunenelemente unserer Tierwelt. Einige unter ihnen sind auf der Erdoberfläche geblieben und finden sich noch heute im Gebirge an feuchten Stellen, im Moos und unter Steinen, andere degenerierten, wurden blind und können nur noch im Untergrund, sei es tief in der Erde oder in Höhlen, leben. Vergleicht man nun die oberirdischen Arten mit den stark evoluierten mehr oder weniger blinden unterirdisch lebenden Formen, so kann man an Hand der Kopulationsorgane drei verschiedene Kategorien unterscheiden:

1. Die Arten der Gattung *Trechus*, die alle die Erdoberfläche bewohnen und Augen besitzen.

2. Die «alten Höhlentiere», d. h. diejenigen unter den Höhlenarten, die, stark verändert, anzeigen, daß sie schon lange den Untergrund bewohnen; und

3. die «jüngeren Höhlentiere» der Entwicklungsreihe des *Duvalius*, von denen einige noch Augen aufweisen und nicht tief im Untergrund unter Steinen zu finden sind, andere nur in Höhlen vorkommen.

Die Merkmale der Kopulationsorgane sind anerkannterweise diejenigen, die am wenigsten veränderlich sind und uns deshalb die besten Aufschlüsse über die Zugehörigkeit der Arten geben. Sie verändern sich im Rahmen der Art nur sehr wenig und sind in den höheren systematischen Abschnitten stets nach dem gleichen Prinzip gebaut. In unserem Fall sieht man, daß diese Merkmale zu gleicher Zeit auch noch die

[1] R. Jeannel, L'Abeille, Paris, *35* 1, (1928).

[2] Von einigen Geologen wird der baltische Bernstein in das Eozän, von anderen in das Oligozän verlegt. Gefunden wird er in sekundärer Lagerstätte in der sogenannten blauen Erde, die dem Oligozän angehört.

Tiere nach ihrer äußeren Morphologie und auch Lebensweise zusammenfassen, so daß wir mit großer Sicherheit annehmen können, daß diese drei Kategorien Entwicklungsreihen darstellen.

Wir haben schon gesehen, daß die Gattung *Trechus* schon im Oligozän in Europa vorhanden war, ihre Verbreitung auf diesem Kontinent muß also schon früher stattgefunden haben. Europa war aber zur Kreidezeit kein zusammenhängendes Land wie heute, sondern ein Archipel, zusammengesetzt aus vielen Inseln. In Nordasien hingegen war der Angarakontinent, der seit langem einen großen zusammenhängenden Landkomplex bildete, auf welchem während der Kreidezeit und auch früher Arten entstehen konnten. Nun war der Angarakontinent während einer sehr langen Periode von Europa durch ein Meer getrennt, dem Obimeer, das das Nordmeer mit dem südlichen Meer, der Tethys verband. Dieses Meer entstand während des Eozäns und verschwand erst am Ende des Alttertiärs, zu einer Zeit also, wo *Trechus* schon bei uns heimisch war. Es wird also früher, vor Entstehung des Obimeeres, am Anfang des Tertiärs gewesen sein, daß die *Trechus*arten sich verbreitet haben, und zwar im Montian, einer Periode während welcher die Meere, sich zurückzogen und weite Landstriche freilegten.

Die geflügelten Käfer konnten sich leicht ausbreiten und besiedelten weite Landstriche. Dann, schon sehr früh, begannen sie sich zu spezialisieren: sie wurden Waldbewohner. Nun zeichnete sich die Tertiärperiode unserer Erdgeschichte durch häufige Bodenbewegungen aus, was einen vielfältigen Wechsel von Festland und seichten Meeren hervorrief. Während der sogenannten Transgressionsperioden, d. h. den Zeiten, wo die Meere an Ausdehnung gewannen, größer wurden, war die Landfauna auf den aus dem Wasser herausragenden alten Gebirgsstöcken isoliert. Während der geokratischen Perioden aber, während welchen sich die Meere zurückzogen, war ihnen wieder freies Feld zur Ausbreitung offen, sie konnten neue Gegenden besiedeln. Dieser häufige Wechsel von Ausbreitungsperioden und Isolierungen ist der Grund, daß die Geschichte unserer Tierwelt so kompliziert und vielfältig ist.

Noch eine andere Erscheinung müssen wir hier erwähnen, die sehr wichtig ist. Jeannel hat beobachtet, daß die Arten, die von ihrem Dispersionszentrum weit entfernt sind, leicht ihre Flugfähigkeit einbüßen, flügellos werden. Es würde zu weit führen, die Beweise für diese Erscheinung hier auszuführen. Wir müssen uns mit der Tatsache begnügen, daß wirklich die Mehrheit der *Trechinae* jetzt flügellos ist. Dieser Zustand trat für einige Arten früher, für andere später ein.

Während der ganzen ersten Hälfte der tertiären Erdperiode war Europa durch ein Geosynklinal horizontal in zwei Teile geteilt, einen nördlichen, der die alten Bergmassive, besonders das böhmische Massiv, dann Schwarzwald und Plateau Central in Frankreich umfaßt, die wir herzynische Zone nennen wollen, und einem südlichen, der durch die Ägäis, die Tyrrhenis und das ibero-mauritanische Massiv gebildet wird, die mediterrane Zone.

Direkt von Asien kommend, verbreiteten sich also die *Trechini* im Eozän auf diesen zwei Zonen, um in den folgenden Transgressionsperioden auf den genannten Massiven isoliert zu werden. Wir werden im folgenden nur die Geschichte der in den Karpaten, Bihar und Banat sich findenden *Trechini* behandeln; eine Berücksichtigung aller Arten des Tribus würde weit über den Rahmen dieses Aufsatzes reichen.

Im böhmischen Massiv waren während des Alttertiärs drei verschiedene Entwicklungsreihen eingeschlossen. Diejenige von *Trechus*, die von *Trechoblemus* und die das Subgenus *Duvalidius* bildenden Arten.

Im Miozän, nachdem die Meere zwischen dem böhmischen Massiv und den frischgebildeten Karpaten sich zurückgezogen hatten (Ende des Schliers), konnten sich die Tiere dieser drei Entwicklungsreihen, die sich zu Waldbewohnern spezialisiert hatten, den Karpaten entlang gegen Süden hin ausbreiten. Von *Trechus* sind die Angehörigen der Gruppen des *Trechus striatulus*, *T. betus*, *T. banaticus* diesen Weg gegangen. Heute noch leben die Tiere in den Bergwäldern an feuchten Stellen im Moos, unter faulendem Holz und Steinen. Ihre Farbe ist schwarz bis braun, ihre Augen sind gut entwickelt. Die einzelnen Gruppen haben eine große Verbreitung, wenn auch gewisse Arten auf ganz bestimmte Bergmassive beschränkt sind. Die Angehörigen der zweiten Entwicklungsreihe, der von *Trechoblemus*, bildeten zwei Untergattungen *Trechoblemus* und *Duvaliopsis*. Währenddem die *Trechoblemus* nach Westen wanderten und in Nordamerika (ähnlich wie die Höhlenheuschrecken und *Typhloblaniulus*) sich in Höhlen festsetzte, gingen die *Duvaliopsis* den Karpaten entlang südwärts. Es sind dies kleine, stets blinde Arten, die unter tief eingebetteten Steinen zu finden sind. In ihrer Wanderung gegen Süden konnten sie aber den Olt nicht überschreiten. Wir werden noch öfters auf den Olt als Faunenscheide stoßen. Es scheint, daß sein Durchbruch durch die Karpaten nicht in neuerer Zeit geschehen ist, sondern daß schon sehr früh dort eine, entweder durch Meeresarme des Sarmatischen Meeres oder durch Sumpf und Lagunen erfüllte Lücke vorhanden war. Den geflügelten *Trechus*arten stellte dieses Tal kein Hindernis entgegen, die bereits stark degenerierten *Duvaliopsis* konnten es jedoch anscheinend nicht überschreiten.

Die dritte Entwicklungsreihe, die Arten der Untergattung *Duvalidius* nahmen denselben Weg. Diese Reihe enthält drei Gruppen, von welchen, zwei die Gruppe des *D. microphthalmus* und die des *D. Merkli*, eng verwandt sind. Sie finden sich auf den nördlichen (*D. microphthalmus*) und in den südwestlichen Ausläufern der Karpaten und im Banat (*D. Merkli*). Alle Arten dieser Gruppen haben kleine Augen oder sind

blind. Das seltsame ist, daß die Arten der *microphthalmus*-Gruppe nicht einheitlich die Degenerationserscheinungen der Augen zeigen. Beim *microphthalmus* der Hohen Tatra sind die Augen noch vorhanden. Beim *D. Bokori* vom Sziliceiplateau sind die Augen noch als kleine weiße Flecken zu sehen und bei *D. Gebhardi* endlich, aus der Kecske Barlang im Bükkgebirge, sind sie ganz verschwunden. Je südlicher der Fundort, also je weiter entfernt vom Dispersionszentrum, je weiter ist die Degeneration der Augen fortgeschritten.

Ähnliches ist bei den Angehörigen der dritten Gruppe, derjenigen des *D. procerus*, festzustellen, die den östlichen Karpatenbogen bewohnen. Auch da ist eine ständige Abnahme des Auges von *D. Roubali* an, der im Maramures zu finden ist, bis zum *D. gracilis*, der die Gegend des Negoi bewohnt, zu beobachten. Die nur wenig evoluierten Arten dieser Gruppe sind noch schwarz gefärbt, die blinden Arten leben unter tiefeingebetteten Steinen und sind schon gelb, d. h. sie haben ihre Pigmentfärbung verloren.

Von den *Trechini*, die, von Asien kommend, die mediterrane Zone besiedelten, konnten nur die auf den nördlichen Teil des ägäischen Festlandes gelangten weiterwandern, weil dieses Land während sehr langer Zeit durch eine den aktuellen Dardanellen ähnliche Meerenge in zwei Teile geteilt war.

Gegen Ende des Miozäns verschwand die Meerenge, die das ägäische Festland in zwei Teile teilte, und es konnten sich die auf der südlichen Hälfte befindenden *Trechini* nördlich verbreiten. Auch sie waren von Asien gekommen, aber später als die ersten Einwanderer. Relikte zeigen, daß ihr Weg sie südlich des Kaspischen Meeres durchführte. Während des ganzen Oligozäns und dem größten Teil des Miozäns wurde ihr weiteres Vordringen auf der Ägäis durch die erwähnte Meerenge verhindert. Nun, da sie verschwunden, setzten sie ihren Vormarsch fort. Alle Angehörigen dieser Invasion gehören der Entwicklungsreihe von *Duvalius* an, die also in drei große Unterabteilungen zerfällt:

1. die *Duvalius*, die ursprünglich die herzynische Zone besiedelten und von denen wir schon gesprochen haben;

2. die *Duvalius*, die aus der nördlichen Ägäis stammen und von denen jetzt die Rede sein wird;

3. die *Duvalius*, die aus der südlichen Ägäis das dinarische System besiedelten und von denen auch die in Krain und Slowenien verbreitete Gattung *Anophthalmus* abstammt.

Von der zweiten Kategorie finden wir im Karpatenbogen nur zwei Artengruppen, die sich geographisch und morphologisch voneinander unterscheiden, aber eine gemeinsame Abstammung in einer in Bosnien sich findenden Gruppe haben (*D. pillifer*). Die erste dieser Gruppe, die des *Duvaliotes Redtenbacheri*, ist in den Höhlen und im Boden des Bihargebirges heimisch. Die andere, die des *D. Budai*, in den Südkarpaten von der Donau bei Herkulesbad bis zum Oltdurchbruch. Ihre Einwanderung muß sehr früh stattgefunden haben, denn während der zweiten Hälfte des Tertiärs waren die alten Gebirge des Banats und des Bihars von der Ägäis durch Meeresarme oder Süßwasserseen getrennt, die sich erst am Ende der Periode während des Pliozäns zurückgezogen haben. Während des Eozäns aber waren die Berge des Banats mit den nördlichen Ausläufern der Ägäis in Verbindung.

Ganz ähnlich wie die Verbreitung des Karabidentribus der *Trechini* ist in Siebenbürgen und in den Südkarpaten diejenige der Silphidenunterfamilie der *Bathysciinae*.

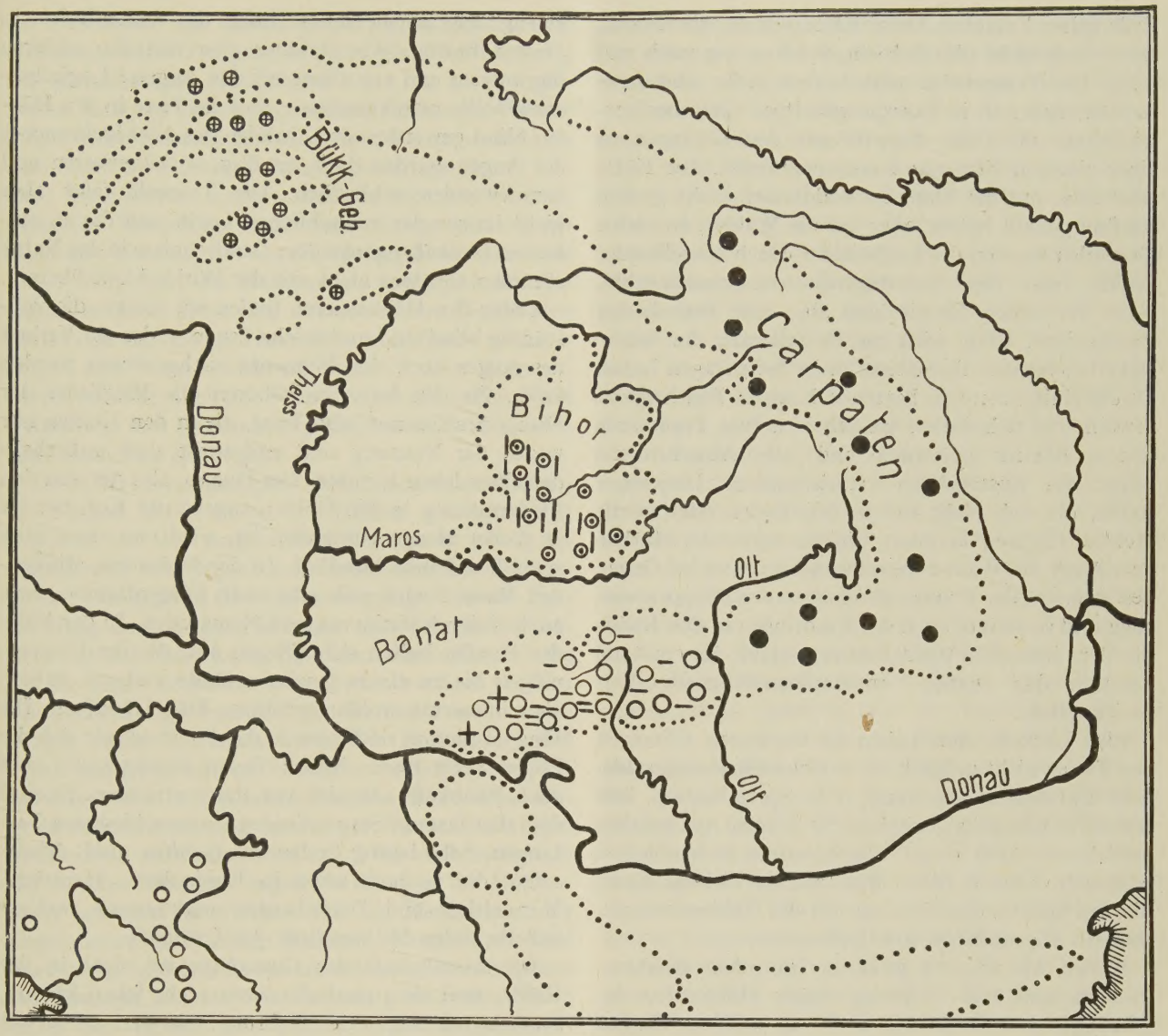
Der Unterschied zwischen Karabiden und Silphiden ist schon erwähnt worden. Wir wiederholen hier nur, daß diese zwei Familien gar nichts Verwandtschaftliches haben, also voneinander völlig unabhängig sind. Und doch finden wir in ihrer Verbreitung große Analogien, die also rein nur durch die äußeren Umstände hervorgerufen worden sind.

Im Gegensatz zu den *Trechinae* finden wir bei den *Bathysciinae* nur sehr wenige oberirdische Verwandte. Es sind dies kleine Arten, meist farblos, also gelb, die im Moos und unter abgefallenem Laub im Humus der Wälder wohnen. Auch sie sind nur Überbleibsel einer in früheren Erdperioden weitverbreiteten Fauna.

Wenn wir nun die Verbreitung der verschiedenen Gattungen der *Bathysciinae* in diesen Gebieten mit derjenigen der *Trechinae* vergleichen, so fällt uns sofort eine erstaunliche Übereinstimmung auf. In den Südkarpaten erstreckt sich der Wohnbezirk der Entwicklungsreihe der *Sophrochaeta* von Herkulesbad bis gegen den Oltdurchbruch und gegen Norden hin bis zum Fuße des Retyesat. Im Bihar hingegen treffen wir die Entwicklungsreihe des *Drimeotus*. Das Verbreitungsgebiet des letzteren stimmt also mit demjenigen des *Duvalius Redtenbacheri* überein, dasjenige der Reihe von *Sophrochaeta* mit dem von *D. Budai*.

An Hand der gegebenen Beispiele haben wir gesehen, daß Relikte in vielen Insektenordnungen zu finden sind. Was alle gemeinsam haben, ist, daß ihr aktuelles Verbreitungsgebiet, obwohl von einer beträchtlichen Ausdehnung, nicht zusammenhängend ist. Es ist aber anzunehmen, daß die Tiere in früheren Zeiten das ganze Gebiet bewohnt haben und seither in verschiedenen Gegenden ausgestorben sind, wodurch das heutige Verbreitungsbild entstand. Welches ist nun der Grund für das Aufblühen von Arten und Artengruppen und ihr plötzliches Wiederverschwinden?

Die große Vermehrung einzelner Artengruppen geschieht stets unter guten Ernährungs- und klimatischen Bedingungen. Nur dann kann ein großer Auf-



Verbreitung der Höhlenkäfer im unteren Donaubecken.

Karabiden: *Duvalidius* Gruppe *microphthalmus* = ⊕ Gruppe *Merkli* = + Gruppe *procerus* = ● *Duvaliotes* Gruppe *pilifer* in Bosnien Gruppe *Budai* = ○ Gruppe *Redtenbacheri* = ⊙ Silphiden: Gruppe *Sophrochaeta* = — Gruppe *Drimeotus* = |

schwung erfolgen. Unter solchen Umständen ist es auch möglich, daß durch Variationen neue Arten entstehen. Die guten klimatischen Verhältnisse bedingen aber eine Schwächung der Abwehr gegen schlechte Zeiten. Darwinisten würden sagen, der Kampf ums Dasein ist fast völlig aufgehoben, und dadurch auch die Selektion.

Wir haben gesehen, daß die Höhlenheuschrecken, Tausendfüßler und Höhlenkäfer ursprünglich Waldbewohner mit einem großen Feuchtigkeitsbedürfnis waren. Am Ende der Tertiärzeit und zu Beginn des Diluviums herrschte in Europa noch ein warmes, feuchtes Klima, und große Wälder überzogen weite Landstrecken. In diesen Wäldern gewöhnten sich unsere Tiere an die große Feuchtigkeit. Das Leben war leicht und der Nahrungssorgen wenige: für die Allesfresser, weil faulende Substanzen in Menge vorhanden waren, für die Fleischfresser, weil genug zu erbeuten war. Es war dies die Blütezeit der heute als Relikten lebenden Arten. Die Tiere spezialisierten sich auf feuchte Orte.

Nun bedeutet aber jede Spezialisation der Organe an eine bestimmte Lebensweise eine Einengung der Abänderungsmöglichkeiten dieses Organismus. Solange die äußeren Lebensbedingungen sich gleichbleiben, spielt dies natürlich keine Rolle, die Arten leben weiter und vermehren sich normal. Tritt aber eine Änderung der Lebensbedingungen ein, so können die spezialisierten Arten sich nicht oder nur schwer an das Neue gewöhnen; sie müssen erliegen.

Bald nach Beginn des Diluviums trat eine starke Temperaturerniedrigung ein, die sich über die ganze

Erde geltend machte. Diese Kälteperiode, die Eiszeit, stellte sich nicht plötzlich ein, sondern nur nach und nach. Die Temperatur sank immer mehr, und zwar so weit, daß sich in Europa gewaltige Gletscher entwickelten, die beim Austritt aus den Gebirgen zu einer einzigen Eismasse zusammenflossen. Die Kälte wird zwar auf die Tiere im Waldboden nicht großen Einfluß gehabt haben, aber auf die Wälder. In vielen Gegenden wurden die Laubwälder durch Nadelwälder ersetzt, was den Nahrungsreichtum einschränkte. Nach der ersten Eiszeit kam aber eine Periode der Trockenheit. Diese wird zur Dezimierung der feuchtigkeitsliebenden Bodentiere mehr beigetragen haben als die Kälte, denn sie hatten sich an die Feuchtigkeit gewöhnt, ja sich darauf spezialisiert. Ihre Tegumente waren dünner geworden und alle Abwehrmittel gegen das Austrocknen verschwunden. Diejenigen Arten, die sich nicht tief in den Boden oder in die Höhlen flüchten konnten, gingen zugrunde, starben aus. Auch die Wälder verschwanden an vielen Orten, besonders in der Ebene; sie mußten den Steppen weichen und so rettete auch das Eindringen in den Boden die dort lebenden Waldbewohner nicht. Es entstand dadurch das heutige, unzusammenhängende Verbreitungsbild.

Eine Umkehr zum Leben im trockenen Klima ist den Tieren nicht möglich, denn eine einmal eingeschlagene Entwicklungsrichtung, d. h. Spezialisation, läßt sich nicht rückgängig machen. Sie können nur auf dem erreichten Punkt dieser Spezialisation stehenbleiben oder sich weiter in dieser Richtung entwickeln. Es ist dies ein Gesetz, das nicht nur für die Höhlentiere gilt, sondern allgemein für alle Lebewesen.

Haben wir uns bis jetzt nur mit dem Reliktenproblem und dem Ursprung einiger Höhlentiere beschäftigt, so müssen wir noch ein anderes Kapitel berühren: das des Einflusses der Umwelt auf die Tiere oder, in unserem speziellen Falle, der Einfluß des Höhlenlebens auf die verschiedenen Arten.

In der Vergangenheit wurden die Fragen, die da auftauchen, meist kurz abgetan. Man sah, daß die Höhlentiere meist anders aussahen als ihre oberirdischen Verwandten, und schloß daraus, daß es eben der Einfluß des Höhlenlebens sei, der diese Veränderungen hervorrufe. Worin bestehen nun diese Veränderungen?

Als das auffallendste Merkmal wurde in erster Linie die Blindheit der Tiere genannt, dann der Mangel an Pigment und schließlich die übermäßige Länge der Antennen und Beinpaare. Erst später kam auch die starke Empfindlichkeit gegen Wechsel des Feuchtigkeitsgehaltes der umgebenden Luft dazu. Alle diese Eigenschaften galten als Resultate des Einflusses des Höhlenlebens auf die Tiere.

Daß dem nicht in allen Fällen so ist, haben wir schon weiter oben gesehen. Die Empfindlichkeit gegen Wechsel in der Luftfeuchtigkeit war die Hauptursache, die die Tiere in den Untergrund (Höhlen oder Boden) zwang, und ist nicht eine Folge des Aufenthaltes in diesem Biotop. Wie steht es aber mit den anderen Merkmalen und vor allem mit den Augen? Logischerweise sollte man annehmen, daß die Tiere in den Höhlen blind geworden sind. Infolge des Nichtgebrauches der Augen wurden diese unnötig, verkümmerten und verschwanden schließlich. Die Tierwelt folgt aber nicht immer der menschlichen Logik und die zu einfachen Gedankengänge über Geschehnisse in der Natur stimmen meistens nicht mit der Wirklichkeit überein.

Unter den Höhlentieren finden wir solche, die vollständig blind sind und solche denen weder ein Verlust des Auges noch des Pigments nachgewiesen werden kann. Zu den letzteren gehören alle Mitglieder der Fauna des Guanos, also Tiere, die in den Höhlen nur wegen der Nahrung sind und sonst auch außerhalb derselben leben könnten. Der Guano, also der von den Fledermäusen in den Höhlen angehäufte Kot, der oft in großer Menge vorhanden ist, wird von einer ganz speziellen Fauna bewohnt. In der faulenden, stinkenden Masse finden sich sehr viele Fliegenlarven, dann auch einige Käferlarven und Nematoden. In der Nähe der Haufen halten sich Fliegen auf, die ihr Flugvermögen bis zu einem gewissen Maße verloren haben, aber immerhin wohlausgebildete Flügel besitzen. Ihr Flug ist plump, sie fliegen in das Licht, wo sie sich die Flügel verbrennen. Neben diesen Koprophagen sind auch Raubkäfer, die sich von ihnen ernähren. Es sind dies aller fast nur Staphyliniden aus verschiedenen Gattungen. Sehr häufig finden wir *Quedius*- und *Atheta*-arten, die ja auch sonst in Kaninchen-, Hamster-, Murmeltier- und Dachsbauten vorkommen, wo sie auf die vielen Mitbewohner Jagd machen.

Die Gesellschaft der Guanobien ist nicht in der Höhle, weil sie außerhalb dieser nicht leben könnte, sondern nur wegen der Nahrung. Sie sind schon seit vielen Generationen dort und es ist an ihnen kein Einfluß des Höhlenlebens zu bemerken.

Einige Forscher (Loeb[1], Dewitz[2]), die sich mit dem Problem der Blindheit und Flügellosigkeit der Tiere, die man auch außerhalb der Höhlen findet, beschäftigten, haben nun herausgefunden, daß eine Einschränkung der Oxydationsvorgänge im Körper Veränderungen hervorrufen, die denen, die wir an Höhlentieren beobachten können, ähnlich sind. Auch Kälte, beständige niedere Temperatur, kann bei gewissen Tieren eine Verkümmerung der Flügel verursachen.

Diese Autoren glauben, daß der hohe Feuchtigkeitsgrad zusammen mit der niederen Temperatur, die in den Höhlen herrscht, die Erscheinungen bewirkt haben, die allgemein als Anpassungen an das Höhlenleben benannt werden.

Wie wir aber weiter oben gesehen haben, lebten die echten Höhlentiere, bevor sie sich in den Untergrund verzogen, in Moosen und faulendem Laub. Wenn nun

[1] J. Loeb, Biol. Bull. *29*, 50 (1915).
[2] I. Dewitz, Zool. Jb., Abt. Allg. Zool. *36*, 231 (1919).

die Höhlenluft nur durch ihren Feuchtigkeitsgehalt und ihre niedere Temperatur schon eine Herabsetzung des Metabolismus hervorrufen kann, in wieviel größerem Maße ist dies in dem nassen Boden der Wälder möglich, wo faulende Substanzen in Menge vorhanden sind. Dort herrschten nicht nur Feuchtigkeit und niedere Temperatur, sondern auch infolge des Fäulnisprozesses Mangel an Sauerstoff. Zudem kennen wir auch den Einfluß der verschiedenen Nebenprodukte dieser Vorgänge, wie Humussäure usw., auf den Organismus noch nicht. Im Gesiebe nasser Waldböden findet sich eine Menge Tiere, die sowohl Farbe wie auch Augen und, wenn es sich um Dipteren oder Hymenopteren handelt, auch ihre Flügel eingebüßt haben. Viele Erdmilben und Kollembolen, dann auch die Isopoden sind blind und pigmentlos.

Es ist darum anzunehmen, daß die aktuellen Höhlentiere schon bevor sie in die Höhlen gelangten, ihr Pigment und ihre Augen einbüßten. Es ist gewiß der Chemismus des Organismus, besonders die Verminderung der inneren Oxydationsvorgänge, was die Entwicklung eines Organs hemmen oder bereits Vorhandenes zurückbilden kann, besonders durch Einwirkung auf die innere Sekretion. Diese Veränderungen sind der Spezialisation gleichzusetzen, die nicht mehr rückgängig gemacht werden kann. Die Auffassung, daß nicht das Höhlenleben Blindheit und Farblosigkeit hervorgerufen hat, sondern daß die Tiere diese Degenerationserscheinung schon vor ihrem Eindringen in dieselben aufwiesen, wird durch die noch außerhalb der Höhlen lebenden engen Verwandten der Höhlenkäfer wirksam unterstützt. Die bei Herkulesbad im abgefallenen Laub in den Wäldern lebende *Mehadiella* oder die an gleichen Orten am Südhang der Karpaten bei Tismana lebende *Sophrochaeta globosa* sind beide blind und farblos. Die günstigen Feuchtigkeitsverhältnisse dieser Gegend wie auch die kleine Gestalt erlauben den Tieren noch das Leben an ihrem ursprünglichen Biotop. In Höhlen sind die Tiere größer, besonders die ultraevoluierten Arten wie *Hadesia*, *Antroherpon* und *Leptodirus*, um nur einige zu nennen, zeigen neben einem aufgetriebenen Hinterkörper sehr lange Extremitäten. Auch diese Eigenschaft wurde als Anpassung an das Höhlenleben gedeutet, da sie jedoch eine Erscheinung ist, die nur bei den äußerst spezialisierten Arten auftritt, welche ein ganz besonders starkes Feuchtigkeitsbedürfnis aufweisen, so kann die Verlängerung der Extremitäten auch mit der Verdünnung des Chitins und der Tegumente in Verbindung gesetzt werden.

Lange Beine und Antennen sind nicht als Ersatz für die Unmöglichkeit zum Sehen zu betrachten, es würden solche sonst bei allen anderen blinden Arten auftreten, sondern ein Resultat der Orthogenese. Wir haben gesehen, daß die Staphyliniden der Guanogesellschaft gar keiner Veränderung unterworfen sind, während andere Arten, die Höhlenkäfer, durch das Leben im Moos und faulendem Laube sich veränderten. Bei den Spinnen ist ähnliches zu beobachten. Gemeine Arten, die wie *Meta Menardi*, in sozusagen allen Höhlen vorkommen, aber auch außerhalb weit verbreitet sind, zeigen gar keine Veränderungen, während andere Arten sich durch Pigment- und Augenverlust auszeichnen. Bei dieser Ordnung müssen wir annehmen, daß es das Höhlenmilieu ist, das die Reduktion der Augen und den Pigmentverlust hervorgerufen hat, denn nur die Troglobienspinnen, also die Arten die nur in Höhlen leben, sind blind und farblos, währenddem von allen außerhalb der Höhlen lebenden Arten keine einzige blind ist. Aber es ist nicht der Lichtmangel, der den Verlust der Augen hervorruft. Dies soll an folgenden Beispielen gezeigt werden. Es ist beobachtet worden, daß bei gewissen Arten, die als troglophil zu bezeichnen sind, also oft Höhlen bewohnen, aber auch außerhalb derselben vorkommen, die Augen der in bestimmten Höhlen wohnenden Tiere reduziert sind, währenddem die Tiere der gleichen Art in anderen, benachbarten Höhlen noch vollkommene Augen besitzen. Der *Nesticus cellulanus* ist eine in Spanien, Frankreich, Italien und Osteuropa weitverbreitete Art. In Katalonien findet man die typische Art in einigen Höhlen, nur in zweien derselben aber die Abart *noctivaga*, die sich von der typischen nur durch totalen Pigmentmangel und Reduktion der Augen unterscheidet. In der gleichen Gegend findet sich auch *Porrhona proserpina* nicht selten, die eine sehr große Verbreitung hat. In den zwei gleichen Höhlen, wo *Nesticus noctivaga* vorkommt, findet sich aber *P. proserpina* in der beinahe blinden und entfärbten Abart *myops*. Dieses Zusammentreffen ist auffallend, und wir müssen annehmen, daß in diesen zwei Höhlen Bedingungen vorhanden sind, die solche Erscheinungen hervorrufen. Aber es ist das nicht ein einzelstehender Fall. *Nesticus speluncarum* ist die Höhlenform des *N. eremita*, *Tegenaria cavernicola* diejenige des *T. pagana*. *Brachyonillus liocranius* ist in einer algerischen Höhle ganz blind, besitzt aber in einer südspanischen noch Augen, und *Hadites tegenariodes*, die in den Höhlen der Insel Lesina blind ist, hat in den Höhlen der Herzegowina noch Augenrudimente.

Aus allen diesen Beobachtungen muß geschlossen werden, daß der Aufenthalt in Höhlen bei gewissen Spinnenarten zweifellos einen Einfluß auf die Sehorgane hat, und daß dieser Einfluß je nach der Art und der Höhle verschieden ist. Anderseits ist auch beobachtet worden, daß eine Verkümmerung der Augen, aber nicht Blindheit, schon auf der Oberwelt, besonders bei den moosbewohnenden Arten, auftreten kann. Es ist dies wieder ein Hinweis darauf, daß es nicht der Lichtmangel in den Höhlen ist, der den Augenschwund bewirkt, sondern daß noch unbekannte Faktoren die Physiologie der betreffenden Arten, vielleicht durch Herabsetzung des Metabolismus, beeinflussen.

Wenn gewisse Lebensbedingungen immer in dem gleichen Sinne auf eine Artengruppe oder Entwicklungslinie einwirken, so werden die Veränderungen an den interessierten Organen unilateral und es entsteht eine immer weitergehende Anpassung an das Milieu. Die orthogenetische Umwandlung ist also nur das morphologische Ergebnis eines unilateralen und dauernden Einflusses. Jedesmal, wenn im Laufe der Erdgeschichte der gleiche Einfluß sich in gleicher Weise unilateral und dauernd auf die Organe verschiedener Entwicklungsreihen geltend machte, so entstand eine orthogenetische Umwandlung, die physiologisch zum gleichen Resultat gelangte, aber morphologisch Konvergenz- oder Parallelerscheinungen hervorrief[1]. Um aber eine solche Umwandlung hervorzurufen, genügt es nicht, daß der Einfluß unilateral und dauernd ist; er muß gleichzeitig auch stark und für die Lebenskraft des Organismus bedeutend sein, weil er sonst durch die anderen vielfachen und gleichzeitig wirkenden verwischt würde. Die Dunkelheit allein ist aber meines Erachtens kein genügend starker Einfluß, um Blindheit hervorzurufen.

Denn man darf den Verlust des Auges nicht als Einzelerscheinung betrachten. Es sind die ultraevoluierten Formen, die in ihrer gesamten näheren Verwandtschaft totale Augenlosigkeit aufweisen. Die *Pheggomisetes* und *Aphaenops* unter den Karabiden, haben eine sehr ähnliche äußere Gestalt, obwohl die ersteren auf ein kleines Gebiet im bulgarischen Balkan, die zweiten in den Pyrenäen leben. Sie sind sehr langgestreckt, mit engem Pronotum und verhältnismäßig stark aufgetriebenem Hinterleib. Die Antennen und Beine sind sehr lang und zart. Ganz ähnlich sehen die stark evoluierten *Silphidae* aus, ob sie nun in Albanien, *Remyella*, oder in Kroatien und Slowenien, *Leptodirus*, *Antroherpon*, leben. Hier liegen Konvergenzerscheinungen vor, die zweifellos durch den ähnlichen Lebensort hervorgerufen worden sind. Die beständig feuchte Luft in den Höhlen hat es den Tieren ermöglicht, trotz der schon vor ihrem Höhlenleben eingeschlagenen Entwicklungsrichtung weiterzuleben. In den Höhlen haben sie sich weiter in derselben Richtung fortentwickelt; die man degenerative Evolution nennen könnte. Die Tegumente wurden dünn und durchlässig, das Tracheensystem verkümmerte, da die unter dem Dome der verwachsenen Flügeldecken angesammelte Luft einen direkten Sauerstoffaustausch durch die hauchdünne Körperoberfläche ermöglichte, ohne daß ein Austrocknen zu befürchten war. Mit dieser Degeneration des Außenskelettes hält auch diejenige der Mundgliedmaßen Schritt, denn bei den am meisten an die Feuchtigkeit gebundenen Karabiden ist die früher kräftige Mandibel des Fleischfressers zu einer dünnen Schere degeneriert. Der Verlust der Augen ist gewiß auch eine Folge der Entartung des Chitinpanzers.

Wir können also im allgemeinen nicht von Anpassungen an das Höhlenleben sprechen. Alle Merkmale, die die Höhlentiere von den auf der Erdoberfläche lebenden Arten unterscheiden, sind degenerativer Art. Verlust ist aber keine Anpassung, ist kein Umbau, sondern Abbau.

Die hier kurz angeführten Resultate und Gedankengänge können nur einen kleinen Einblick in das Wesen der Speologie geben. Dieser Wissenszweig steckt beinahe noch in den Kinderschuhen, und es mag einiges, was hier gesagt wurde, den Tatsachen nicht ganz entsprechen und später geändert werden.

Ich hoffe aber immerhin, dem Leser den Eindruck zu hinterlassen, daß sich hier nicht nur dem Zoologen, sondern auch anderen Wissenszweigen, wie der Physiologie, Tiergeographie und Paläogeographie, ein fruchtbares Arbeitsgebiet bietet.

Summary

Speology is the science that deals with caves and the animal life to be found in them. The Institute of Speology of the University of Cluj has collected since 1920 a large amount of zoological material from caves. The data so far collected have been partially worked out and already published in 67 papers (over 6000 pages).

Among the cave dwelling animals we find a fair amount of relics, e. g. species which, long extinct overground have continued to live in caves thanks to the constancy of the conditions of life, especially the damp atmosphere of this biotope. The geographical distribution of these relics often enables us to reconstruct and explain the history of the group of animals to which these relics belong. This is illustrated by some examples.

The modifications which are observed in cave dwelling animals are not accounted for, in the main, by their underground life. Most of these animals were already blind when they entered the caves. It is thus not the lack of light that had the most important influence on them. Before the relics that actually lived in the caves entered there, they were found in the moist soil of the woods of the tertiary periods. It was the influence of this biotope that weakened their powers of resistance against the influence of the outer medium, and they had when the moisture and warm climate of the tertiary period gave place to the dry, steppic climate of the interglacial periods, to disappear from the surface and look for shelter underground.

In general we can not speak of adaptations to the subterranian life. Nearly all the characteristics that distinguish the cave animale from those living on the surface, e. g. blindness, loss of pigment, supersensitivity to changes in humidity due to the thinness of their integuments, are of degenerative order. Loss is not evolution but involution; in other words, the subterranean life leads to a degenerative evolution.

[1] Es sei hier nur daran erinnert, daß sowohl Ichthyosaurier wie auch Wale, die von vierfüßigen Landtieren abstammen und nicht die entfernteste Verwandtschaft aufweisen, zu sehr verschiedenen geologischen Zeiten durch den Übergang zum Leben im Wasser Fischgestalt angenommen haben.

Quantum Efficiency in Photosynthesis

(A review and some new data)

By E. K. GABRIELSEN[1], Copenhagen

According to quantum theory, the number of molecules converted in a photochemical process is given by

$$n = k \frac{Q}{h\nu}, \qquad (1)$$

where Q is the absorbed radiation energy, $h\nu$ the size of the quantum (h is PLANCK'S constant and ν the radiation frequency) and k a proportionality factor indicating the number of molecules converted per absorbed quantum (quantum efficiency). For simple processes $k = 1$, the number of converted molecules corresponding to the number of absorbed quanta. For more complicated processes such as photosynthesis it appears that k becomes smaller than 1, since more than one quantum is necessary for the conversion of one molecule.

From the thermodynamical expression for photosynthesis

$$6\,CO_{2\,(0{\cdot}0003\ atm.)} + 6\,H_2O_{\,(liq.)} = 6\,O_{2\,(0{\cdot}2\ atm.)} + C_6H_{12}O_{6\,(sol.)} - 708 \cdot 10^3\ cal$$

it can be calculated that the quantum yield in the reduction of carbon dioxide during radiation with the least quanta within the photosynthetic spectrum from λ 300 to 700 mμ is at the most

$$k = \frac{6\,N\,h\,\nu}{Q} = \frac{6 \cdot 6{\cdot}06 \cdot 10^{23} \cdot 6{\cdot}7 \cdot 10^{-20}}{708 \cdot 10^3} = 0{\cdot}34,$$

on the assumption that all absorbed light energy is transformed into bound chemical energy in the photosynthates or, in other words, that no energy is lost during conversion (at λ 700 mμ, $h\nu = 6{\cdot}7 \cdot 10^{-20}$ cal, N is the number of molecules in a gram molecule). It results from the calculation that at least 3 quanta are needed for the reduction of one molecule of carbon dioxide.

The first experiment aiming at the determination of the quantum yield in photosynthesis was performed by WARBURG and NEGELEIN[2] in 1923. The experimental material consisted of monocellular green algæ (*Chlorella vulgaris*) suspended in a nutritive solution rich in carbon dioxide. The density of the cells in the experimental chamber was so high that all incident light was absorbed. The light sources were partly the spectral lines λ 436 and λ 578 mμ from a mercury vapour lamp, partly the red light from λ 610 to 690 mμ, obtained from an incandescent lamp by means of a monochromator. The intensity of the light reaching the algæ suspension was measured in energy units by means of a bolometer. The assimilation intensity was measured by connecting the experimental chamber with a Barcroft differential manometer and determining the differences between the oxygen exchange during short experiments alternately in light and in darkness. The determinations in light were made in weak intensities (on an average $3 \cdot 10^{-5}$ cal/cm^2/sec) in order to avoid the influence of factors which affect the non-photochemical partial processes of the photosynthesis at stronger illumination.

WARBURG and NEGELEIN found the following values for k:

	λ 436	λ 578	λ 660 mμ
mean value	0·196	0·234	0·226
maximum value .	0·213	0·267	0·244

and from the good agreement of the mean values at λ 578 and λ 660 mμ they concluded that the energy conversion in photosynthesis is in agreement with quantum theory (EINSTEIN'S photochemical law of equivalence). The lower quantum yield in blue light at λ 436 mμ was explained by the assumption that the light absorption at this wave-length, in contrast to the other wave-lengths, is not only located in the chlorophyll molecules, but also in xantophyll- and carotin molecules, and the light absorbed by the latter either has no photosynthetic effect at all or is working with a lower quantum efficiency than the light which is absorbed by the chlorophyll. Disregarding the results in blue light, the interpretation of which is made difficult in consequence of the light absorption of xantophyll and carotin, and taking into account the sources of error of the method, a consumption of four light quanta per carbon dioxide molecule converted or, in other words, a quantum efficiency of 0·25 has to be assumed (WARBURG[1]).

For many years, WARBURG'S value of the quantum efficiency was undiscussed and it served as the basis for numerous hypotheses concerning the photochemical partial processes in photosynthesis. Not before about ten years ago, when the quantum efficiency was studied by applying methods for the determination of the assimilation intensity other than the manometer method, the correctness of this value

[1] From the Laboratory of Plant Physiology, The Royal Veterinary and Agricultural College, Copenhagen.

[2] O. WARBURG and E. NEGELEIN, Z. physik. Chem. *106*, 191 (1923).

[1] O. WARBURG, Biochem. Z. *166*, 386 (1925).

became dubious. Manning *et al.*[1] determined the assimilation intensity by aerating a Chlorella suspension and measuring the CO_2 consumption and the oxygen liberation by means of a Burrel-Haldane air analysis apparatus; they considered $k = 0{\cdot}05$ to be the most probable value. The measurements of the oxygen liberation by means of Winkler titration were in good agreement herewith. Petering *et al.*[2] and Dutton and Manning[3], using *Chlorella pyrenoidosa* and the diatom *Nitzschia closterium*, respectively, determined the oxygen balance by means of the dropping mercury electrode[4] and found values of k varying between 0·04 and 0·10. Similarly low values for the quantum efficiency were found by Magee *et al.*[5], using a method based upon a principle not applied before. These authors placed Chlorella cells in a specially constructed photocalorimeter and measured the energy conversion during photosynthesis as the difference between the light energy absorbed by the algæ suspension and the heat developed in the calorimeter. From the results k was calculated to have a value between 0·05 and 0·11, with a mean value of 0·08. Tonnelat[6] who also worked with a calorimetric method found a somewhat higher value, viz. $k = 0{\cdot}14$.

Emerson and Lewis[7] gave an explanation for the remarkable discrepancy between the efficiency values primarily observed and those found later. In experiments with Warburg and Negelein's original method they showed that the measured quantum efficiency was largely dependent on the conditions under which the Chlorella cells were cultivated. After addition of micro-nutritients to the culture medium or when cultivating in weak light, the efficiency could be raised above 0·25 molecules per quantum and even close to the theoretical maximum value $k = 0{\cdot}34$. Furthermore, the temperature at which the experiments were performed had a marked influence on the result. None of these facts is in favour of the reliability of the method.

In a subsequent work[8], Emerson and Lewis succeeded in detecting a systematical error in Warburg and Negelein's method. The source of error turned out to be a process independent of photosynthesis and resulting in the fact that, in the dark, the plant cells accumulate carbon dioxide which is suddenly liberated on illumination. Thus, the manometer deflections were influenced during the short experimental periods applied by Warburg and Negelein[1], and the assimilation intensity appeared higher than it actually was. If the source of error was eliminated—for example by placing the algæ (*Chlorella pyrenoidosa*) in a carbonate-bicarbonate buffer so that the CO_2-balance did not affect the manometer—a quantum efficiency higher than 0·11 was never observed. When applying this procedure, the results were independent both of the experimental temperature and of the cultivation conditions, except for the fact that the efficiency decreased with increasing age of the cultures if these were grown in strong light. The least quantum efficiency measured was 0·06. Measurements of the quantum efficiency on plant species other than *Chlorella pyrenoidosa* were in agreement with those given above. On 7 among 8 green algæ (*Chlorella vulgaris*, *Eudorina*, *Stichococcus*, *Scenedesmus*, etc.) the highest values observed were between 0·09 and 0·11; on one species only k was 0·07. Experiments with the blue-green algæ *Chroococcus* led to $k = 0{,}09$. Experiments with the small water flowering plant *Wolffiella lingulata* (Lemnaceae) resulted in a quantum efficiency of 0·06. However, it should be mentioned that for the latter plant the light absorption was not so complete as in the case of the different algæ.

The k values found by Emerson and Lewis in their latest investigations are for *Chlorella pyrenoidosa* between 0·08 and 0·09[2] and for *Chroococcus* between 0·07 and 0·08[3].

Emerson and Lewis' observations made with the manometer method were confirmed to a certain degree by Rieke[4]. Using Warburg and Negelein's method, Rieke found a quantum efficiency between 0·17 and 0·21, while when using a carbonate buffer a few experiments led to values of 0·12–0·13. On the other hand, Eichhoff[5], when applying the same buffer solution, obtained values very close to those reported by Warburg, viz. $k = 0{\cdot}25$. The reliability of Eichhoff's method, however, is doubtful due to the fact that he measured efficiency values in the ultrared spectrum (up to λ 833 mμ) whereas no other investigators ever succeeded in detecting assimilation in this part of the spectrum (cf., for example, Emerson and Lewis[6] and Gabrielsen[7]). Apart from Eichhoff, also Wassink *et. al.*[8] and Dorrestein *et. al.*[9], using the buffer method, registered values higher than those given by Emerson and Lewis (0·11–0·20).

[1] W. M. Manning, J. F. Stauffer, B. M. Duggar, and F. Daniels, J. Am. Chem. Soc. *60*, 266 (1938). – W. M. Manning, C. Juday, and M. Wolf, ib. *60*, 274 (1938).

[2] H. G. Petering, B. M. Duggar, and F. Daniels, ib. *61*, 3525 (1939).

[3] H. J. Dutton and W. M. Manning, Am. J. Botany *28*, 516 (1941).

[4] H. G. Petering and F. Daniels, J. Am. Chem. Soc. *60*, 2796 (1938).

[5] J. L. Magee, T. W. de Witt, E. C. Smith, and F. Daniels, ib. *61*, 3529 (1939).

[6] J. Tonnelat, C. R. *218*, 430 (1944).

[7] R. Emerson and C. M. Lewis, Am. J. Botany *26*, 808 (1939).

[8] R. Emerson and C. M. Lewis, ib. *28*, 789 (1941).

[1] J. Tonnelat, C. R. *218*, 430 (1944).

[2] R. Emerson and C. M. Lewis, Am. J. Botany *30*, 165 (1943).

[3] R. Emerson and C. M. Lewis, J. gen. Physiol. *25*, 578 (1941).

[4] F. F. Rieke, J. Chem. Phys. *7*, 238 (1939).

[5] H. J. Eichhoff, Biochem. Z. *303*, 112 (1939).

[6] R. Emerson and C. M. Lewis, J. gen. Physiol. *25*, 578–95 (1941).

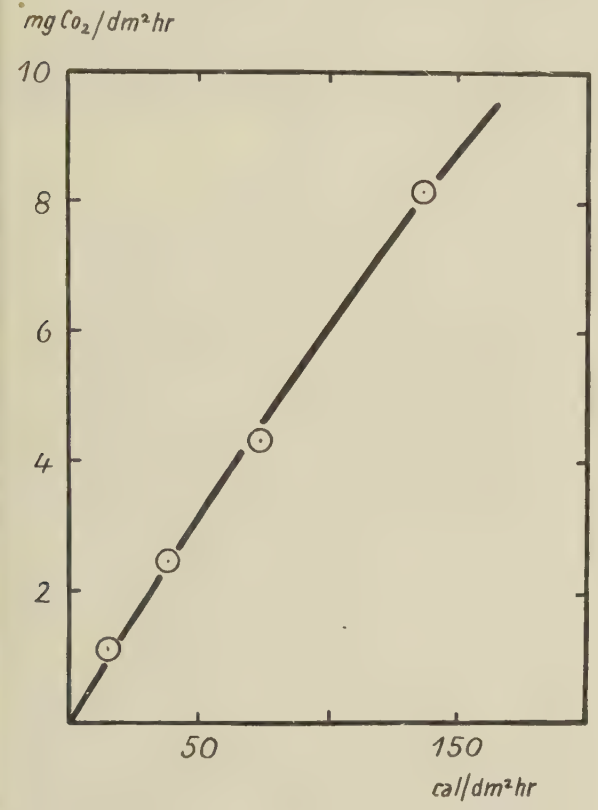
[7] E. K. Gabrielsen, Einfluß der Lichtfaktoren auf die Kohlensäureassimilation der Laubblätter. Diss. Copenhagen, 1940. Dansk bot. Ark. *10*, 1 (1940).

[8] E. C. Wassink, D. Vermeulen, G. H. Reman, and E. Katz, Enzymologia *5*, 100 (1938).

[9] R. Dorrestein, E. C. Wassink, and E. Katz, ib. *10*, 355 (1942).

It is the aim of the present paper to report the fact that also in experiments on foliage leaves of land plants results have been obtained which are in agreement with the recently observed low efficiency values of water plants.

The figure shows the carbon dioxide assimilation as a function of the light intensity as determined on the leaves of *Sinapis alba* according to GABRIELSEN[1]. The determinations were performed in red light from an incandescent lamp, using a filter permeable to wave-lengths from 580 to 740 mμ (maximum permeability at λ 640 mμ). The intensity of the light effective in



Photosynthesis in leaves of *Sinapis alba*. Red light (λ 580–700 m μ).

photosynthesis ($\lambda < 700$ mμ) was measured with a selenium photocell calibrated in absolute units. The assimilation intensity was determined in streaming atmospheric air in experiments of 10 minutes duration. The linear course of the curve near the zero point indicates that the carbon dioxide factor, despite the low carbon dioxide tension in the streaming air, was optimal at the lowest illumination intensities. At an illumination of 40 cal/dm²/hr, where the curve does not yet bend towards the abscissæ, the assimilation intensity is 2·55 mg CO_2/dm²/hr, corresponding to $5{\cdot}8 \cdot 10^{-5}$ mol CO_2/dm²/hr. The number of reduced carbon dioxide molecules (n) are $5{\cdot}8 \cdot N \cdot 10^{-5} = 3{\cdot}51 \cdot 10^{19}$ per dm²/hr. The quantity of light absorbed within the photosynthetic spectrum can be calculated from the illumination intensity (40 cal/dm²/hr) if we know the light absorption of the leaves, expressed in fractions of the illumination (A), the energy emission (L) of the lamp, and the transmission of the light filter (T) as functions of the wave-length:

$$Q = 40 \frac{\int_{580\ \mathrm{m}\mu}^{700\ \mathrm{m}\mu} A\,L\,T\,d\lambda}{\int_{580\ \mathrm{m}\mu}^{700\ \mathrm{m}\mu} L\,T\,d\lambda} - \mathrm{cal/dm^2/hr} \qquad (2)$$

The values of L and T used in the calculations are taken from GABRIELSEN[1] (Fig. 18, curve 2, and Table XVII, filter OR_2). The values of A are unknown for the leaves of *Sinapis*. On the basis of numerous investigations on the light absorption of green leaves (cf., for example, SEYBOLD and WEISSWEILER[2,3]) it may, however, be assumed that the absorption does not vary considerably from one plant to another; this holds true especially if the chlorophyll concentration per surface unit and the thickness of the leaf are of similar dimensions. Taking SEYBOLD and WEISSWEILER's figures for the light absorption in leaves of *Fagus silvatica*[2] whose leaf thickness and chlorophyll content are similar to those of *Sinapis* leaves (6·5 mg chlorophyll/dm² and 7·0 mg/dm², respectively) we obtain from equation (2) $Q = 33{\cdot}5$ cal/dm²/hr. Inserting the values for n, Q, and the mean quantum size $h\nu = 7{\cdot}26 \cdot 10^{-20}$ in (1), we find $k = 0{\cdot}076$.

Using the same procedure and data from the same source, the efficiency values for the leaves of *Corylus maxima* and *Fraxinus excelsior* are $k = 0{\cdot}072$ and $k = 0{\cdot}076$, respectively.

In these calculations it is assumed that all light absorbed in the leaves is absorbed by chlorophyll molecules and has a possibility of being utilized during photosynthesis. However, this assumption does not hold true. Light is also absorbed by cell walls, cytoplasm and other non-green parts of the leaves, and this absorption is not of a negligible magnitude. From SEYBOLD and WEISSWEILER's measurements of the light absorption in chlorophyll-free leaves of *Pelargonium zonale*[2] it appears that the absorption in the red part of the spectrum varies gradually from 20 per cent of the illumination (at λ 600 mμ) to 18 per cent (at λ 700 mμ). Naturally, we cannot expect that the absorption in green leaves by substances other than chlorophyll (the unproductive absorption) will be of the same dimensions as in white leaves, since a large part of the light is absorbed in the uppermost cell-layers rich in chlorophyll and, thus, has no opportunity of being unproductively absorbed farther inside the

[1] E. K. GABRIELSEN, l. c.

[2] A. SEYBOLD and A. WEISSWEILER, Bot. Arch. (Leipzig) *43*, 252 (1942).

[3] A. SEYBOLD and A. WEISSWEILER, ib. *44*, 102 (1942).

leaves. On the basis of his measurements on the light absorption in green algæ with only one single layer of plastids (Ulvaceae), Seybold[1] estimated that the unproductive absorption in green leaves at the most amounts to 10 per cent of the illumination. This value appears to be rather reasonable if it is taken into account that the light, before entering the cells of the palisade tissue rich in chlorophyll, passes an epidermis which, apart from the guard cells around the stomata, does not contain any chlorophyll. Correcting the value of Q for an unproductive absorption amounting to 10 per cent of the illumination leads to $Q = 29{\cdot}5$, and the k values of the *Sinapis*, *Corylus* and *Fraxinus* leaves are then placed between 0·082 and 0·087.

In addition to the data presented above, some observations on photosynthesis in leaves made by Briggs in 1929[2] may serve as a basis for analogous calculations. Briggs' experiments were performed in light of wave-lengths 570 to 640 mμ. The assimilation was determined by air analysis, applying Blackman's palladium-black method in a hydrogen atmosphere with 5 vol. % carbon dioxide. Using the leaves of *Phaseolus vulgaris* (the only species on which several experiments were performed) and an average illumination of 33·5 cal/dm^2/hr, he observed a mean value for the oxygen evolution of 1·03 ml/dm^2/hr. Applying Seybold and Weissweiler's figure for the light absorption in *Phaseolus* leaves[3], we can calculate $k = 0{\cdot}077$ if no correction is made for unproductive absorption, and $k = 0{\cdot}088$ if a correction is performed in the manner described above. These values are in reasonable agreement with those calculated for the leaves of *Sinapis*, *Corylus* and *Fraxinus*.

The present calculations of the quantum efficiency in foliage leaves seem to indicate that the correct value is between 0·08 and 0·09. Thus, the results are in good agreement with numerous investigations on the quantum efficiency in monocellular algæ performed in recent years, especially those carried out with great thoroughness in methodical respect by Emerson and Lewis. There is much reason to assume that within the whole plant kingdom the conversion of one carbon dioxide molecule by photosynthesis requires about 12 quanta (12 quanta per molecule $\sim k = 0{\cdot}083$). Presumably, the true figure will never be determined quite accurately. With regard to the algæ, it will scarcely be feasible to measure the gas exchange during photosynthesis with sufficient accuracy; with respect to leaves, where this difficulty does not exist, the unproductive absorption, which eludes measurement, makes an accurate determination of the quantum yield impossible. Finally, the possibility cannot be excluded that an unproductive absorption exists also in algæ, and here it might also build a barrier, which would make impossible an exact determination of the quantum efficiency.

Zusammenfassung

Nach der thermodynamischen Gleichung für die Photosynthese kann die Quantenausbeute bei dem Prozeß (k = Anzahl von umgesetzten CO_2-Molekülen pro absorbiertes Lichtquant) höchstens einen Wert $k = 0{,}34$ haben. Für den Umsatz von 1 CO_2-Molekül müssen mindestens 3 Quanten verwendet werden. Warburg und Negelein fanden 1923 bei Versuchen mit einzelligen Grünalgen $k = 0{,}23$ und haben hieraus geschlossen, daß der Umsatz von einem CO_2-Molekül 4 Lichtquanten erfordere. Später wurde die Richtigkeit dieser Angabe bezweifelt, da zahlreiche Untersuchungen mit anderen Methoden einen k-Wert zwischen 0,04 und 0,14 ergaben. Die Diskrepanzen wurden durch Emerson und Lewis (1939–41) erklärt: sie fanden in den Versuchen von Warburg und Negelein einen methodischen Fehler. Emerson und Lewis beobachteten bei einzelligen Grünalgen k-Werte zwischen 0,07 und 0,11.

In der vorliegenden Arbeit wird darauf hingewiesen, daß man auch bei Laubblättern k-Werte von weniger als 0,23 erhält. Nach den Beobachtungen von Briggs und von Gabrielsen sind bei *Sinapis*-, *Corylus*-, *Fraxinus*- und *Phaseolus*-Blättern k-Werte zwischen 0,08 und 0,09 zu berechnen. Diese Werte deuten ebenso wie die bei Algen erhaltenen darauf hin, daß der Umsatz von einem CO_2-Molekül bei allen grünen Pflanzen 12 Quanten erfordert; das entspricht einem k von 0,083.

[1] A. Seybold, Planta (Berlin) *21*, 251 (1933).
[2] G. E. Briggs, Proc. Roy. Soc. London (B) *105*, 1 (1930).
[3] A. Seybold and A. Weissweiler, Bot. Arch. (Leipzig) *43*, 252 (1942).

The Trephocytes and their Functions

By Emil Liebman[1], Princeton, N. J.

Though white blood cells had been seen before, T. Wharton Jones[2] is usually credited with their discovery and their first brief description as cellular elements. Williams[3], in a careful study of numerous invertebrates, gives a detailed account of "non-locomotive", more or less spherical leucocytes, filled "with oil molecules and granules" and stresses their large size, which in some species makes them discernible with the naked eye.

Williams, like his predecessor, also saw ameboid elements but considered them as "jagged and broken

[1] N. Y. Zool. Society.
[2] T. Wharton Jones, Philos. Trans. *136*, 63 (1846).
[3] Th. Williams, Philos. Trans. *142*, 595 (1852).

cells" for they were then thought to represent artifacts or, more commonly, amebas. Lieberkühn[1] is largely to be credited with disproving these misconceptions and demonstrating that the ameboid elements are actually leucocytes.

Ingestion of solid particles was considered an important characteristic of amebas and, to prove further the ameboid nature of leucocytes, it was repeatedly attempted to make them take up such substances. Haeckel[2], by injecting indigo and carmine suspensions into several invertebrates, finally succeeded in demonstrating ingestion of particulate substances by the leucocytes, a phenomenon which later became known as phagocytosis.

Despite the occasional early distinction between non-ameboid and ameboid leucocytes, both were generally held as identical or, at best, were confused with each other. Nonetheless, it was gradually realized that the leucocyte inclusions, held to be fat or albuminoid, are liberated into the body fluids—a view already conjectured by Williams. Thus a dualistic nature became vaguely associated with the leucocytes, viz.: ingestion of foreign matter, and liberation of nutritive substances.

The conceptions of this period are perhaps best reflected in the extensive study of Cuénot[3] covering practically the whole animal kingdom. Briefly, his conclusions were that the ameboid, hyaline elements are phagocytes and normally instrumental in excretion. Upon further development they evolve inclusions of nutrient matter, losing, *pari passu*, more or less of their ameboid capacity. The nutritive matter is released into the body fluids, the cell changing again into an amebocyte. He often considered the leucocytes as mediators between the digestive system and the rest of the body, especially where their origin or sojourn was linked with this system. Later, clearly under the influence of Metchnikoff's theories, he reversed his stand on the nutritive function of the leucocytes and, often based on faulty technics, saw in all leucocytes phagocytes or excretory cells. Kollmann[4] has not gone so far as Cuénot in rejecting the nutrient function of leucocytes but his account is often confused owing to an attempt to use the size of the cellular inclusions or their tinctorial reactions as exclusive criteria.

Metchnikoff, starting with studies on ingestion and digestion of particulate food by the endorm-cells of lower invertebrates, later found that in the higher animals somewhat similar faculties are still retained by some mesodermal cells: the free and fixed macrophages and the microphages (special leucocytes[5], neutrophils in man). He also established the role of phagocytosis in metamorphosis. But his greatest contribution is the discovery that the leucocytes phagocytose and destroy bacteria and other pathogenic agents, thus acting in defense of the organism. Starting with the pioneer study on *Daphnia*[1] he rapidly extended his investigations to pathogenic organisms of higher animals and man and expounded what is known as the phagocytic theory or inflammation and immunity[2].

The great importance which Metchnikoff's work held for medicine caused all attention to be focussed on the phagocytic and defensive functions of the leucocytes and the notion became practically universal that they are all involved in these activities.

This trend lasted well over a quarter of a century. It was broken by the extensive studies on the leucocytic trephones of Carrel[3] and his school and was soon followed by investigations into the trophic function of leucocytes in invertebrates. A summary of these developments is presented here. Owing to their relative simplicity, conditions in invertebrates are dealt with first.

A. *The trephocytes of invertebrates*

Investigations of the present writer on representatives of annelides, insects, tunicates and the cœlenterate *Tubularia*[4] as well as other sources, reveal that invertebrates possess two main kinds of leucocytes: (a) hyaline and (b) granular (Fig. 1).

The hyaline elements are similar to the lymphoid series of vertebrates and can conveniently be termed lymphoidocytes. Functionally, these cells represent *phagocytes* as, with the possible exception of their youngest forms, the lymphocytes, they are able to ingest foreign and noxious matter, an activity known as *phagocytosis*. Phagocytosis is particularly evident in the largest of these cells, the macrophages.

The granular elements are neither ameboid nor phagocytic. In cases where they develop from a common stem cell with the phagocytes, the intermediate forms may be both ameboid and phagocytic, but the fully developed ones of all cases are neither ameboid nor phagocytic. Their morphological and more detailed physiological properties, as well as similarity throughout the animal kingdom, have been outlined by the writer and the term *trephocytes* suggested for them as they produce and ultimately liberate nutritive and growth substances. Their function is referred to as *trephocytosis*.

[1] N. Lieberkühn, Müllers Arch. Anat. Physiol. *1854*, 1, 349.
[2] E. Haeckel, Die Radiolarien. Berlin 1862.
[3] L. Cuénot, Arch. Zool., expér. 2me sér. *9*, 13, 593 (1891).
[4] M. Kollmann, Ann. Sci. nat. (Zool.) Année 84 (9 sér.) *8*, 1 (1908).
[5] In order to avoid contradictions and confusion stemming from terminology based on staining reactions, which vary greatly in these elements, depending on the species, this term will be used henceforth. It is particularly suitable as *these* leucocytes are special feature of the vertebrates only.

[1] E. Metchnikoff, Virchow's Arch. *96*, 177 (1884).
[2] E. Metchnikoff, Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation. Paris 1892. – L'immunité dans les maladies infectieuses, Paris 1901.
[3] A. Carrel, J. Am. med. Ass. *82*, 255 (1924), et ante.
[4] E. Liebmann, Zool. Anz. *69*, 65 (1926); Zool. Jb. (Physiol.) *44*, 269 (1927); Zool. Jb. (Anat.) *54*, 417 (1931); J. Morph. *70*, 151, *71*, 221 (1942); J. exp. Zool. *91*, 373 (1942); J. Morph. *73*, 583 (1943); Growth *9*, 43 (1945); Ib. *10*, 291 (1946).

The trephocytes as a rule are larger than the corresponding phagocytes in the same species and apparently represent the largest blood elements in the animal kingdom. Their shape is spherical, sometimes ovoid or flattened. They are non-ameboid when fully developed though a slow and slight change in form may be noticed during prolonged observation, even in the older forms.

The nucleus is round or oval. It is small in relation to the cytoplasm and often smaller than the corresponding nucleus of the phagocytes, features particularly evident in the fully grown elements. It stains rather weakly, showing only few chromatin granules. In the mature cell, the nucleus is often elongated, fragmented into two or more portions, or pycnotic; sometimes it dissolves in the cytoplasm, the cell remaining anuclear. In fixed material, a central body and a mitom appear as regular features of these elements.

The cytoplasm is filled with endogenous inclusions ranging in size from coarse granules to a single large globule, filling the bigger portion of the cell. In the latter case, the globule may develop by accretion of smaller droplets or by growth of a single minute inclusion, the various stages being found in the same individual. In some species the individual cells may contain inclusions ranging from granules to big globules; exceptionally, the inclusions are fine and appear more or less uniform in size. The tinctorial reaction of the inclusions varies from weak acidophilia to basophilia, the latter apparently being more common. Metachromasy has been observed in an oligochæte and a tunicate. In some species the individual trephocytes contain granules staining in a diverse manner; even single inclusions may exhibit areas or layers of diametrically different staining affinities. The inclusions of young trephocytes are often chromophobe. All this suggests the relative unimportance of staining reactions as general criteria.

The chemical nature of the inclusions is of far greater significance. Protein and lipids, often combined, appear to be most common; phospholipins, glycogen and mucin are also frequent. Guanine, claimed to be a growth substance, is reported from trephocytes of numerous annelides. Basophilia of the inclusions and dissolution of the nucleus in the cytoplasm suggest the presence in these cases of nucleoproteins. Old cells often contain pigment granules and urates which apparently represent end products of the cells' own metabolism. The inclusions are frequently colored, which gave rise to assumptions that they contain a respiratory pigment. This seems to be established for echinochrome found in echinoderms (MacMunn, Cannon, and others). In highly specialized groups like the insects, derivatives of trephocytes are suspected of producing hormones and enzymes.

In older trephocytes the inclusions, together with the nucleus and cytoplasm, often fuse into spheroid, compact concretions. In *Tubularia*, these are almost homogenous and appear to represent one of the two modes of trephocyte development (Fig. 2); here they are known as "pseudo-cells". All these formations represent globular masses of nutrient matter to be utilized in growth.

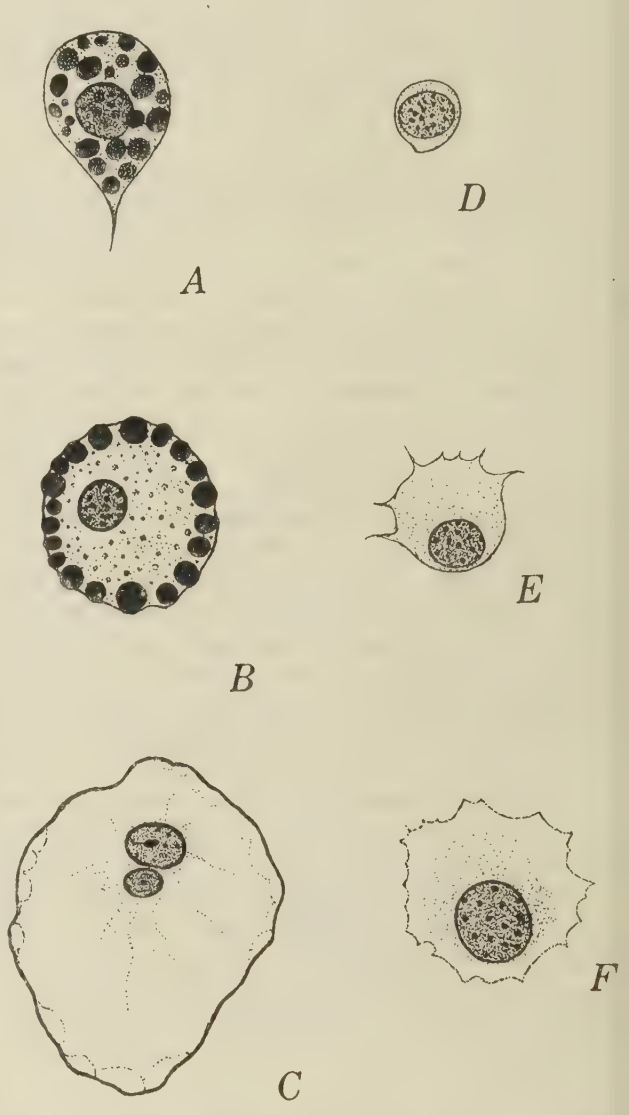


Fig. 1. Left series: trephocytes, right series: phagocytes, of the earthworm *Eisenia foetida*, drawn to the same scale. *A* a young, *B* a mature trephocyte; *C* a mucocyte; *D* a lymphocyte; *E* an intermediate form (young macrophage, monocyte); *F* a macrophage. Original.

The trephocytes often form aggregates: these have been investigated in the earthworm *Eisenia foetida*. Here they float in the cœlomic fluid and though not bound by a limiting membrane their form and position in the body are practically stable. In the adult they are active during regeneration only and may thus be regarded as regeneration organs. There are two

such organs in this species each located at opposite ends of the body and each exhibiting characteristic cytological and cytochemical traits of its own: a permanent "head" organ and a transitory "tail" organ. The latter is formed after amputation and utilized in regeneration of the posterior part of the body. Very young individuals invariably possess a tail organ which is used up during the growth of the posterior segments.

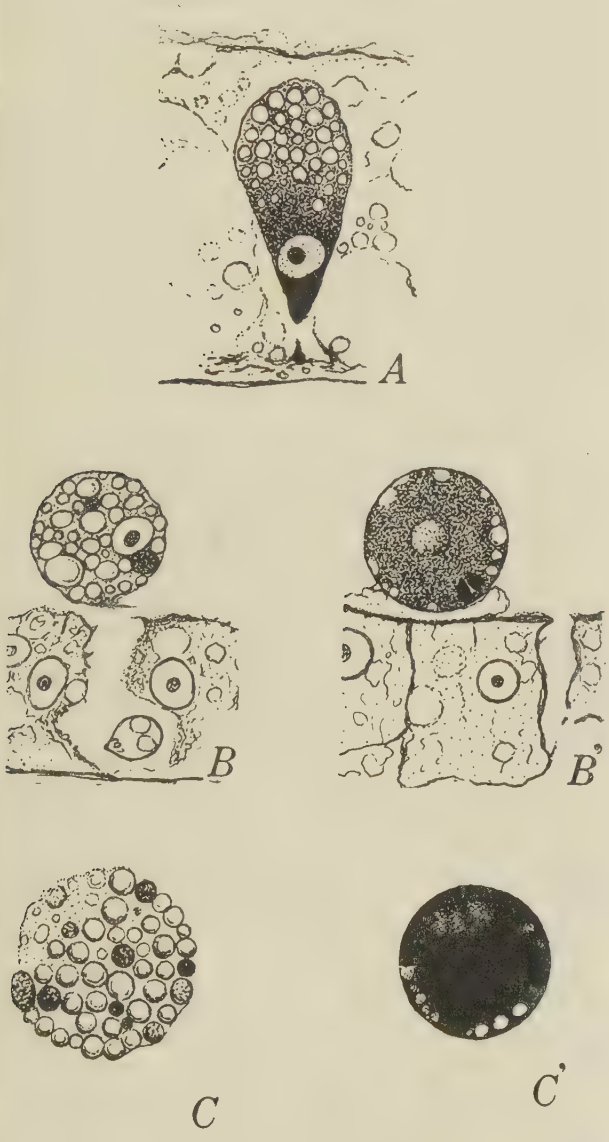


Fig. 2. Trephocytes of *Tubularia* sp.; *B*, *C* granular variety; *B' C'* homogenous, compact variety ("pseudo-cells"); *A* endodermal stem cell of both. Original.

Similar aggregates have long been known in insects and termed fat-bodies, a misnomer as, besides fat, their cells contain protein, glycogen and other substances (Wigglesworth). Their organization varies, according to the species, from loose aggregations like those in *Eisenia*, to compact cell masses covered with a membrane (Snodgrass). Exceptionally, as in *Aleurodes*, no fat body is present and the trephocytes (fat-cells) float freely in the body fluids.

In the tunicate *Styela partita*, mature trephocytes were found by the author to settle in the connective tissue where they attain large size; this phenomenon resembles conditions in the vertebrates, where the tissue mast-cells also reach extreme proportions. The staining reactions in this particular case are also similar to those of the mast-cells. This turning of free trephocytes into fixed cells does not apparently represent an isolated case amongst invertebrates and also seems to occur in molluscs.

The substances formed by the trephocytes are released into the body fluids, organs and tissues or directly into other cells. As a rule, it is mostly the fully grown elements which liberate their inclusions. During this process the cell often disintegrates, thus its whole content, including the nucleus, serves as nutrient. In cases where the cell survives the process, its cytoplasm appears hyaline, liquid and poorly or non-stainable. These emptied cells are usually called mucocytes (Fig. 1 *C*).

The body fluids of numerous invertebrates contain very little nutritive matter in dissolved form. In these species, which probably comprise the majority, the trephocytes represent the main or sole carriers of nutrient substances within the organism. In those where the dissolved nutrients attain a higher percentage, the action of the trephocytes, though not entirely lacking in normal conditions, becomes very patent in sites and periods of increased growth, as in wound healing, regeneration, metamorphosis, sexual and asexual reproduction.

The ovarial eggs during their growth period offer very suitable objects for the study of both increased activity of the trephocytes and their penetration into, and assimilation by, another cell. In *Tubularia*, the so-called pseudo-cells are found in great numbers in the growing eggs, where they gradually become assimilated (Fig. 3*A*). Trephocytes were also detected in the ovaries and eggs of several oligochætes investigated; the deutoplasm of these eggs shows cytochemical characteristics similar to those of the trephocyte inclusions, from which it largely derives. In the cases mentioned, the trephocytes apparently penetrate passively into the egg. In *Styela*, however, and probably in other tunicates, the process is apparently an active one, the trephocytes penetrating when they are still in the young, ameboid stage (Fig. 3*C*). Here, as in the two other tunicates studied, the trephocytes actually seem to grow for some time within the egg before they disintegrate and become incorporated into the cytoplasm. Trephocytes appear to furnish substances to the growing eggs of other groups also (sponges, myriapodes, spiders, etc.).

The ingestion and assimilation of trephocytes by other cells is apparently not confined to the ovum.

Young phagocytes of annelides were observed *in vivo* to nip off portions of live trephocytes and to assimilate them. This apparently represents a form of feeding on the part of the phagocytes and can hardly be considered as phagocytosis in the accepted sense, which usually implies removal of dead or noxious matter. Trephocytes migrate into the epithelium of the digestive tract of oligochætes, where they are often found within the cells in a dissolved condition and are assimilated by them. A more frequent occurrence is that of the trephocyte applying itself to another cell or tissue and giving off its content directly to them or to the pericellular fluid.

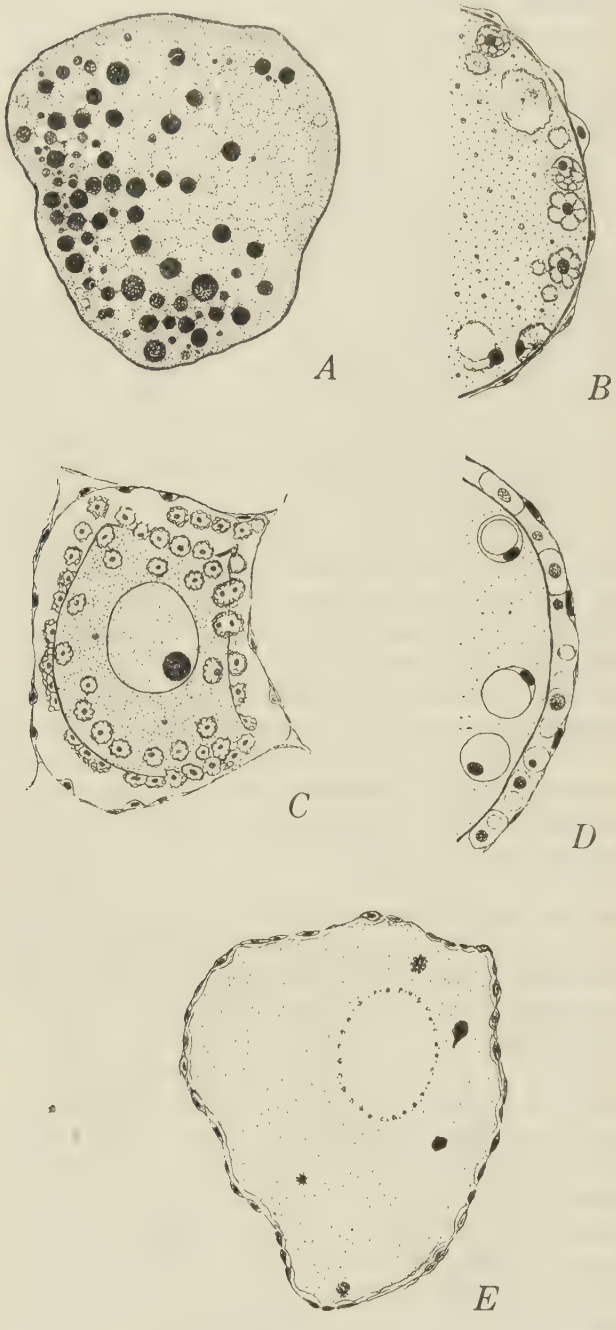


Fig. 3. Trephocytes in ovarial eggs. *A* of *Tubularia* sp.; *B*, *C*, *D* of the tunicates *Perophora viridis*, *Styela partita*, *Molgula manhattensis*; *E* lymphocytes (dark spots) in the egg cytoplasm of *Triturus viridescens*. Original.

Trephocytes are also instrumental in asexual reproduction. In tunicates they are reported to move into the winter-buds and to form aggregates filling their cavity (Speck[1]). Speck's assumption, however, that they are "totipotent" cells from which all the tissues of the emerging organism develop is untenable in our opinion, since the trephocytes represent specialized end cells.

There are some isolated observations that elements of the trephocyte type play some role in wound healing in a variety of animals (echinoderms, crustacea, insects). In *Eisenia*, where conditions are best known, they accumulate near the wound in great numbers, after the macrophages have eliminated the cellular debris caused by the injury. Except for greater intensity, their action is essentially the same as in normal conditions and consists in supplying nutrient to the cicatrix during the healing process.

During regeneration of the same species the trephocytes act as elements of special aggregates or organs described earlier. In addition to their characteristic morphology, these organs are quite specific in their function. They are not affected by, nor do they become active in, wound-healing or the developing egg, and it is evident that the individual trephocyte, when organized into an aggregate, loses its pluripotent trophic capacity and is capable of supplying nutriment to the regenerant only. The aggregates are functionally polarized and act exclusively in one direction, which coincides with and possibly determines the direction of regeneration; their extent and quantitative gradient appear to be the immediate determinants of the extent and gradient of regeneration. When no aggregate is present, no regeneration is observed to take place.

The study of trephocytosis throws some light on the still obscure problem of growth-correlations. In *Tubifex* and *Eisenia* continued egg production depletes the reserve of trephocytes and the mother tissue producing them: the chloragogue. This in turn causes a decrease of regeneration capacity in the depleted region. Vice versa, amputation of the posterior end attracts great numbers of trephocytes for the ensuing regeneration process, thus withdrawing them from the egg, and oviposition ceases during the main period of regeneration. In other words, the presence of one type of intensive growth consumes the available trephocytes (and ultimately nutritive matter) thus inhibiting the simultaneous occurrence of other types of growth. As similar growth correlations are of com-

[1] J. Speck, Arch. Entwmech. *111*, 119 (1927).

mon occurrence, it is not improbable that a like mechanism underlies these cases.

The trephocytic aggregates of the insects, the fat-bodies, apparently represent the highest degree of development in the animal kingdom. This seems to be linked with the presence in this group of periods of highly increased growth during moulting and metamorphosis and it is in these processes that the activity of the fat body is most conspicuous. It often breaks up into individual cells and the reserve material stored up in the latter becomes liberated so that the blood assumes a thick, creamy appearance. In some cases the individual fat-cells disintegrate, as is the case with trephocytes in general. The substances released into the blood are apparently utilized in the extensive upbuilding processes which take place during this period. In the adult, the fat body is often larger in the female than in the male; this may be connected with egg-production as suggested by the writer for mosquitoes. Starvation and hibernation cause a considerable depletion of the reserve substances from the fat body.

*

It should be stressed here that the trephocytes are not merely nursing cells in the usual sense but that they appear to enter some close physio-chemical relation with their surroundings or the object they nurture. So far, the indications for such a nexus are few but nevertheless highly significant. The phenomenon that in *Eisenia* both trephocytic aggregates, though lacking a membrane or other bonds, are kept in shape and position notwithstanding the movements of the body and the lymph, points to some as yet unknown forces in the internal milieu, effecting this stability. In this species the trephocytes of the head aggregates differ considerably from those of the tail, though both originate from identical free elements: those of the tail have characteristic lipid inclusions, whilst those of the head are devoid of them. Similarly in tunicates, the trephocytes within the eggs develop in a different way, and their inclusions frequently show tinctorial and cytochemical reactions varying from those in the elements outside the ovum.

The significance of trephocytosis in the invertebrate organism may be judged by the numerical prevalence of the trephocytes over the phagocytes. In oligochæte annelides, crustaceans, insects, tunicates and some smaller groups, they are the predominant type of leucocytes. In other forms, where they are not as numerous, they and their activity apparently become prevalent during periods of increased growth activity.

The morphologic and physiologic pecularities outlined above clearly demonstrate that the trephocytes are specific cells and not merely transitory forms of phagocytes, as surmised by early investigators. Actually they represent highly specialized end cells, as witnessed by the loss of the nucleus, a phenomenon again encountered in the mammalian erythrocyte. The fact that in several groups they arise independently from the phagocytes (in *Tubularia*), often in special regions or even in peculiar organs (in oligochætes and polychætes), only stresses their specific character. Finally, their occurrence in the lowest invertebrates suggests that they are phylogenetically the first specialized hemocytes in the animal kingdom.

B. *The trephocytes of vertebrates*

Notwithstanding the great number of investigations into the vertebrate leucocytes, our knowledge of their trephocytes and trephocytosis is in many respects far more limited than that of invertebrates. In consequence, much of the evidence offered here is fragmentary and some conceptions expressed debatable or of a hypothetic nature.

As will be shown, the mast-cells, amongst the vertebrate leucocytes, reveal the closest possible resemblance to the invertebrate trephocytes. They are not, however, the only vertebrate blood elements exhibiting a trophic activity and the lymphocytes appear to elicit similar functions. This duplication does not stand alone in the vertebrates; a similar case is the emergence in this group of the special leucocytes and their supplementing—and in some respect superseding—the function of the macrophages. Thus there are apparently in the vertebrate organism two kinds of trephocytes: mast cells and lymphocytes, and two kinds of phagocytes: macrophages and special leucocytes.

(a) *The mast-cells*

It is generally agreed that in the lower vertebrates the tissue mast-cells originate from those of the blood: the mast leucocytes or basophils. As for the mammals, the majority of hematologists maintain—largely on the basis of solubility of the cellular inclusions—that each represents a distinct cell type.

In rodents and some other groups, however, a separation of mast leucocytes from mast-cells is difficult and a migration of the former into the tissues has been repeatedly observed (Türk; Helly, Jolly, Lehnert[1]); in inflammation this seems to be of general occurrence. There are also claims that forms intermediate between the two kinds are encountered (Marchand, Zimmerman, and others). The numerical correlation between the blood elements and those of the tissues, observed in mammals, adds further support to the idea that here too both kinds are genetically related. And, finally, our own observations on the variations of invertebrate trephocytes and their inclusions, de-

[1] For a detailed account on earlier investigations, see: A. Michels, The Mast-Cell, in Downey's Handbook of Hematology *1*, 232 (1938).

pending on the surroundings, make it very doubtful whether the argument of variability can be applied against a unitarian cenception of the mammalian mast-cell. Consequently, both the tissue mast-cells

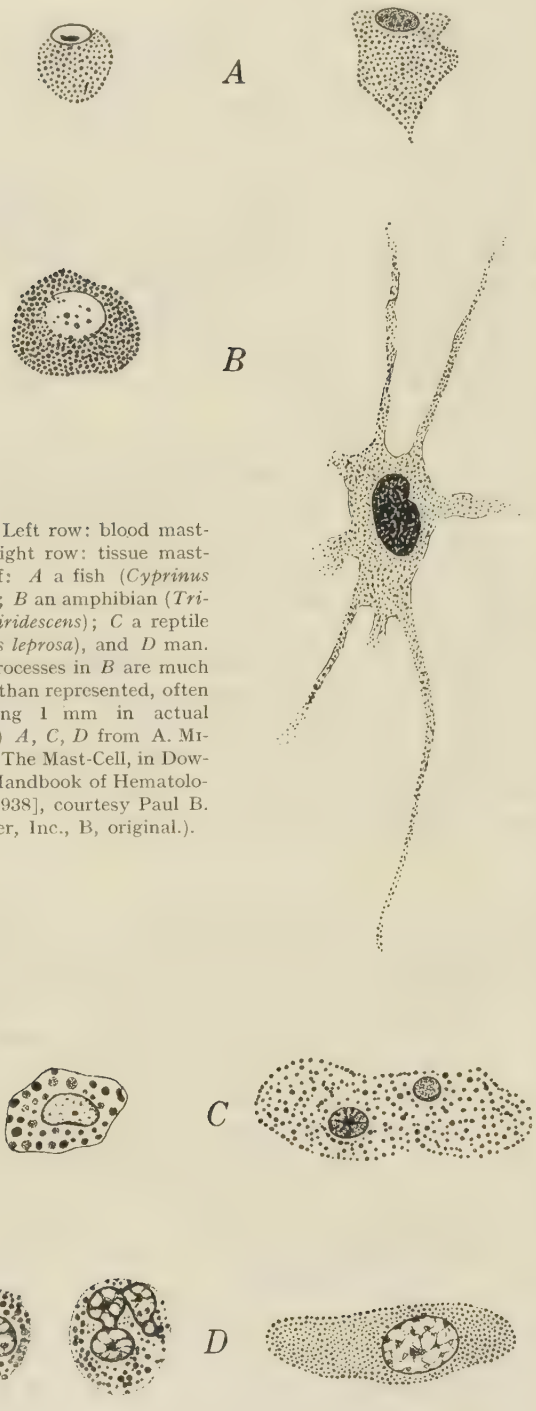


Fig. 4. Left row: blood mast-cells; right row: tissue mast-cells of: *A* a fish (*Cyprinus carpio*); *B* an amphibian (*Triturus viridescens*); *C* a reptile (*Clemys leprosa*), and *D* man. (The processes in *B* are much longer than represented, often exceeding 1 mm in actual length.) *A*, *C*, *D* from A. Michels, The Mast-Cell, in Downey's Handbook of Hematology *1* [1938], courtesy Paul B. Hoeber, Inc., B, original.).

and those of the blood will be considered as representing variants of a single type throughout the entire vertebrate section.

The blood mast-cells vary considerably in relative size, sometimes greatly exceeding all the other leucocytes, a trait observed occasionally even in the mammals (pig, camel). The tissue mast-cells, however, appear to be invariably larger than the corresponding mast leucocytes, often attaining gigantic size (Fig. 4). In the blood, their shape is spherical or oblong; in the tissues of similar form, polymorphous or branched. There is general agreement that both the blood and the tissue elements are poorly or non-ameboid and non-phagocytic. The tissue mast-cells very often form aggregates.

The nucleus is round, oval or indented; in the blood mast-cells of the higher vertebrates it is often lobated or moderately polymorphous. In the tissue variant, which probably represents the fully grown element, the nucleus is small in relation to cell size, often fragmented or pycnotic; a centrosome is also found in this form.

The cytoplasm is packed with granular, occasionally spherular, inclusions which usually vary in size within the species or the individual cell. Tinctorially they are all basophilic and usually metachromatic. The inclusions are variously described as containing albumin (Ehrlich, Ballowitz, v. Möllendorff, Nakajima, and others), glycoprotein, specifically mucin or a mucoid substance (Wermel and Sassuchin; Pappenheim, Harris, Staemler, and others) and fat (Lombardo, Ciaccio, Tuma). Basophilia of the granules suggests, according to recent views, the presence of ribonucleic acid; several early investigators (Meyer, van Herwerden, Romieu) assumed that the inclusions contain nucleoprotein. Some of the above claims, especially regarding fat, are admittedly not uncontested. Recent studies by Jorpes, Holmgren, and Wilander[1] strongly suggest that the metachromasy of the granules is indicative of heparin. By this we have not nearly exhausted all the claims, which include: glycogen, pigment, elastin, oxydase, peroxydase, etc.

Amongst the numerous and controversial claims about the nature and function of the mast-cells, two views are almost unanimously upheld: (a) that they are not phagocytic and (b) that they release portions of their cytoplasm and inclusions to the surrounding, the elements acting as unicellular glands. This and the great similarity of the mast-cells to the invertebrate trephocytes, both as regards morphology and the chemical nature of their inclusionn, leaves little doubt that the mast-cells are trephocytes.

The notion that the mast-cells are linked with the nutritional condition was already voiced by Ehrlich[2] who was the first to demonstrate the specificity of these elements and who was the originator of their name. This view, albeit not uncontested, is held by many investigators and is supported by ample though

[1] E. Jorpes, H. Holmgren, and O. Wilander, Z. mikr. anat. Forsch. *42*, 242, 279 (1937).

[2] P. Ehrlich, Arch. mikr. Anat. *13*, 263 (1877); Arch. Anat. Physiol. (Phys. Abt.) *1879*, 166.

admittedly general evidence. To quote only some: in frogs, feeding causes increase of mast-cells as compared with the fasting period (Stassano and Haas). Similarly, mast-cells in the gut of lower vertebrates were considerably scarcer after hibernation (Michels). They were also found to be extremely active in assimilation and transportation of food (Weill). A decrease in the number of mast-cells and disapearance of fat from their inclusions was observed in avitaminosed rats (Tuma). Rats fed on cows' milk showed a doubling in the number of peritoneal mast-cells (Nakajima).

In so far as growth is concerned, investigations have been limited almost exclusively to neoplasms. It has repeatedly been observed that the mast-cells accumullate around cancerous growth, whether spontaneous (Fromme, Weill, Higuchi) or experimental (Bierich, Fabris, and others). It is assumed that they have a defensive role here. Recently Cramer and Simpson[1] based such statement on the presence of heparin in the mast-cells. *In vitro*, this substance was found to retard the growth of sarkoma cells and histiocytes (Zakrzewski; Fischer).

During regeneration of the salamander *Triturus viridescens*, tissue mast-cells in the vicinity of the cut were found to shed a great part of their granules; at the same time, similar inclusions appeared in the fibroblasts of the regenerant, which multiply intensively during this period (Liebman, unpublished observations). Whether these inclusions are given off directly to the fibroblasts has not been definitely established, but there are some indications that this may be the case. Brodersen[2] claims that in the mouse a transition of granules from the mast-cells to the fibroblasts takes place under normal conditions.

We have limited our account to the functions of nutrition and growth, the main activities with which the trephocytes in general are concerned; these too take up a considerable part in the study of the mast-cells. Other phenomena have occasionally been linked with these cells, such as: pigmentation, respiration, lactation, etc. Considerations of space and the secondary place these functions occupy in the investigations of the mast-cells, exclude dealing with them at present.

The similarity, both morphological and functional, and the identity of substances found in both, strongly suggest that the mast-cells are homologous to the invertebrate trephocytes. Though many particulars especially those regarding the function of the mast-cells are little known and probably for this reason highly controversial, the picture as a whole is too convincing to permit any other conclusion.

It is at the same time evident that, numerically at least, the mast-cells represent a vestigial cell-system, especially in the higher vertebrates. Whilst in the blood of some lower vertebrates they still make up one-third or more of all leucocytes, they seldom exceed 3% in mammals; in man they vary between ½%–1%. This decrease is also claimed to be patent in the tissue mast-cells. The limited information available seems, however, to suggest that in the vertebrates the lymphocytes supplement, substitute or even supersede the mast-cells and their function.

[1] W. Cramer and W. L. Simpson, Cancer Res. *4*, 601 (1944).
[2] J. Brodersen, Z. mikr. anat. Forsch. *14*, 60 (1928).

(b) *The lymphocytes*

Carrel and his school, based primarily on tissue culture studies, demonstrated the growth-promoting action of vertebrate leucocytes. He also made it probable that the leucocytes produce trephones, substances assumed to be both trophic and activating in character and similar to, or identical with, protein hydrolyzates. He did not however make it clear which type of white-blood cell is instrumental in producing growth increase and suggested alternately leucocytes, lymphocytes and macrophages as involved in this process.

Recent investigations indicate that of the types mentioned above, the lymphocytes function as trephocytes within the organism, a view expressed earlier by several hematologists (Renaut, Weidenreich, Jolly).

The vertebrate lymphocytes show essentially the same traits as those of the invertebrates (Fig. 1*D*): small size, relatively large, round nucleus and little cytoplasm. The ameboid and phagocytic properties are lacking or poor. As in the invertebrates, the lymphocytes of vertebrates appear to possess an embryonic, pluripotent character. There is an increasing body of evidence, admittedly not uncontested, that besides other functions they give rise to all blood cells, including the macrophages (see: Drinker and Yoffey[1]). Opinions are not divided on this question, at least with regard to the lower vertebrates.

That lymphocytes shed portions of their cytoplasm has long been known and it was even conjectured that this may represent a trophic activity (Weidenreich, Downey). During this process they may disintegrate completely, including the nucleus, or they may change into plasma cells, elements very similar to lymphocytes, often enlarged and showing an achromatic region (Hof) around the nucleus, the latter phenomena reminiscent of those in the mucocytes. There are numerous indications supporting the view that the plasma cells actually represent spent and senile lymphocytes.

The phenomena of cytoplasm-shedding and dissolution of lymphocytes were long overlooked or regarded as abnormal. Recent investigations of White and Dougherty[2] have demonstrated that this is a

[1] Z. K. Drinker and J. M. Yoffey, Lymphatics, lymph and lymphoid tissue. Cambridge, Mass., 1941.
[2] A. White and T. F. Dougherty, Ann. N. Y. Acad. Sci. *46*, 859 (1946) et ante.

normal activity controlled, in laboratory mammals, by pituitary-adrenocortical secretion. The lymphocytes were found by these authors normally to contain highly nutritive proteins (γ and probably β- globulin) and an intensified disintegration of the lymphocytes resulted in an increase of serum γ- and β- globulins.

In immunized animals the lymphocytes release antibodies (Ehrlich; Dougherty and associates). Thus it appears that this aspect of the defense mechanism against pathogenic agents is linked with trephocytes and not, as assumed earlier, with the phagocytes[1] and represents merely a special form of trephocytosis. When disintegrating, lymphocytes undoubtedly liberate nucleic acids which are present both in the nucleus and cytoplasm (Brachet) and are highly important in protein synthesis and in growth.

The vertebrate lymphocytes form numerous aggregates and organs. In the simplest cases, as subepithelial follicles (lymphoid tissue), they are found primarily along the alimentary tract, have no lymph vessels and usually no proper limiting membrane. In some respects they resemble the trephocytic aggregates of invertebrates. Their function may represent nothing but the sum total of the activity of the individual lymphocytes making up these accumulations. The more composite organs of the higher vertebrates: the lymph-nodes, thymus, spleen, are also too heterologous in function to be dealt with here, even briefly.

Individual lymphocytes are frequent in most tissues, including the epithelioid. It is generally maintained that they wander here between the cells. Loreti[2], however, claims that within the renal and intestinal epithelium of fishes and Amphibia, some penetrate into the cells and disintegrate, a phenomenon which he considers to represent a trophic process. Recently Andrew and associates[3] stressed again that the lymphocytes in the intestinal epithelium of mammals are for the most part intracellular in position; they degenerate and are claimed to pass into the lumen and to act as defensive cells. I found them to be quite frequent in the epidermis of salamanders, where they are occasionally located within the cells. No discharge to the exterior was observed here. Macrophages are generally known to ingest fragments of, or whole disintegrating lymphocytes, a process which may represent a normal way of food intake. The inclusion-bodies of malignant cells are considered, by some, to be ingested lymphocytoid cells (Huzella, Vadash).

[1] E. Metchnikoff found himself compelled, in his later work, to modify his phagocytic theory of immunity and assumed that the macro- and microphages, in addition to their phagocytic activity, liberate, upon disintegration, hemolytic and bactericidal enzymes (his macro- and microcytase). The notion that phagocytes release antibody is steadily losing ground in favor of the lymphocytes.

[2] P. Loreti, Z. Anat. Entwgesch. *103*, 679 (1934), Arch. Ist. Bioch. Ital. *7*, 407 (1935).

[3] W. Andrew and associates, Anat. Rec. *93*, 251 (1945); *96*, 445 (1946).

A more decisive conclusion as to the trophic nature of lymphocytes found in other cells is gained from their relation to the ovarial eggs recently studied by the writer in *Triturus viridescens*[1]. They are found in the ova during the latter's growth period, which occurs in the autumn, and are particularly numerous at the height of this period, in September (Fig. 3*E*). Within the egg they undergo a progressive fragmentation and are incorporated into the cytoplasm. During regeneration in the same species, they begin to appear prior to, and their disintegration rate runs parallel with, the mitotic activity of the fibroblasts (Liebman, unpublished observations). It is apparently common that mitotically active tissues contain lymphocytes. The involution of the thymus and of the lymphoid tissues with age likewise suggests a using up of their contents in growth processes.

A connection between cancer and lymphocytes has repeatedly been observed and also experimentally approached (Murphy and associates, and others). Generally, an increase or decrease of the number of lymphocytes corresponds with an increased or decreased incidence of tumors. It remains to be elucidated whether this suggests that the lymphocytes exert a defensive function here or, what seems more probable, stimulate the growth of neoplasms by furnishing them with protein, nucleotides and other substances.

*

The lymphocytes are easily the most numerous leucocytes of the higher vertebrates. In the mammals, where conditions are well known, they admittedly occupy the second place in the blood; on the other hand, however, they comprise almost the exclusive cell content of the lymph and the lymphoid tissue, the latter alone amounting to 1% or more of the total body weight.

A considerable number of the lymphocytes normally disintegrate in the body fluids, in the tissues, or within other cells, thus acting as trephocytes. These, together with the mast-cells undoubtedly make up a large portion of the total number of the leucocytes. Thus we have in the vertebrates conditions resembling those in the invertebrates, where a considerable part, often the majority, of the white blood cells are trephocytes. It should be added here that the two remaining types of vertebrate leucocytes, hitherto unmentioned: the eosinophils and the thrombocytes (platelets in mammals) also liberate substances into the organism. Thus, out of a totality of six main types of vertebrate leucocytes, only two are phagocytes, the others acting as free, unicellular glands.

Conclusions

A study of conditions in the animals reveals the presence in their organism of poorly or non-ameboid

[1] E. Liebman, Am. J. Anat. *77*, 273 (1945).

and non-phagocytic leucocytes: the trephocytes. An outline of their morphology is presented. Their function consists in liberating endogenous, nutritive and growth substances into the body fluids, the tissues and into individual cells. This activity is referred to as trephocytosis. There is evidence that the trephocytes are also involved in respiration and other functions.

The trephocytes and the phagocytes represent the two main and often sole groups of white-blood cells of the invertebrates. In several major groups, as in the oligochætes, in Crustacea, insects and tunicates, the trephocytes make up the majority of the leucocytes. In all cases, however, they and their action are predominant when growth, and anabolic processes in general, take place.

Morphologically, the mast-cells of the vertebrates are identical with the invertebrate trephocytes. Their function, though little known and controversial, also seems to be trophic. They appear, however, to represent a vestigial and waning cell system within the vertebrates. Our limited information suggests that here the lymphocytes supplement and even supersede the mast-cells and their functions.

In animals having body fluids with a low content of dissolved nutrients, as seems to be the case in most invertebrates, the trephocytes are the sole or main carriers of nutritive matter. Their function is nonetheless still considerable in forms possessing blood rich in nutrients, including the lower vertebrates and mammals.

The study of trephocytosis reveals some fundamental points regarding the nutrition of the animal cell. It appears that, in addition to utilizing substances in solution, the cells within the organism also take up and assimilate whole trephocytes or corpuscular matter liberated by them (granules and cell fragments). This has so far been observed to take place in ovarial eggs, and in mesodermal and epithelial cells. The nutrient of some animal cells thus appears to be made up of both chemical as well as biological components. It may thus become rather difficult to explain nutrition of the animal cell in purely chemical terms.

Résumé

Certaines recherches ont démontré qu'il se trouve dans l'organisme des animaux des leucocytes peu ou non amiboïdes et non pnagocytaires: les tréphocytes. L'article présent donne un aperçu de leur morphologie. Leur fonction est de transmettre des substances endogènes, nutritives et de croissance aux fluides du corps, aux tissus et aux cellules individuelles. Cette activité est connue sous le nom de tréphocytose.

Les tréphocytes et les phagocytes représentent les deux groupes principaux et souvent uniques des leucocytes des invertébrés. Dans certains groupes importants (Oligochètes, Crustacés, Insectes, Tunicates) la plupart des leucocytes sont des tréphocytes. De toute façon, les tréphocytes et leur fonction sont prédominants durant la croissance et les procès anaboliques en général.

Du point de vue morphologique, les mastocytes des vertébrés sont identiques aux tréphocytes des invertébrés. Leur fonction, quoique peu connue et de nature controverse, paraît également être trophique. Néanmoins, ils semblent représenter chez les vertébrés un système cellulaire décroissant. Il résulte de nos recherches limités, qu'ici les lymphocytes supplémentent et remplacent même les mastocytes et leur fonction.

Chez les animaux dont le sang a un bas contenu de nutriments dissouts, comme cela paraît être le cas chez la plupart des invertébrés, les tréphocytes sont les porteurs uniques ou principaux de matières nutritives. Leur fonction est non moins considérable chez les formes à sang riche en nutriments, y compris les vertébrés inférieurs et les mammifères.

L'étude de la tréphocytose révèle quelques points essentiels au sujet de la nutrition de la cellule animale. Il apparaît que les cellules des organismes n'utilisent non seulement les substances dissolues, mais ingèrent et assimilent en outre des tréphocytes entiers et des matières formées, libérées par les tréphocytes (granules ou fragments cellulaires). Jusqu'à présent, ce fait a été observé dans les œufs ovaires et dans les cellules mésodermiques et épithéliales. Les substances nutritives de certaines cellules animales seraient donc en partie chimiques et en partie biologiques.

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Über die Struktur des Pharmakosiderits

Der Pharmakosiderit ist ein kubisch-hexakistetraedrisch kristallisierendes basisches Ferriarseniat zeolithartiger Natur.

Pulver-, Drehkristall- und Laue-Aufnahmen des Minerals ließen sich eindeutig kubisch indizieren, ebenso eine Pulveraufnahme von Alumopharmakosiderit, eine, mit dem natürlichen Pharmakosiderit offenbar isomorphe Aluminiumverbindung. Die Gitterkonstanten wurden praktisch übereinstimmend mit den Werten von G. Hägele und F. Machatschki[1] – Pharmakosiderit: $a = 7{,}94$ Å, Alumopharmakosiderit: $a = 7{,}75$ Å – gefunden. Da keine systematischen Auslöschungen zu beobachten sind, ergibt sich die Raumgruppe T_d^1 (möglich eventuell T^1).

Die Nachrechnung der bisherigen Analysen des Minerals ergab die wahrscheinliche Formel: $[Fe_4(OH)_4(AsO_4)_3] \cdot K \cdot 6\text{–}7\,H_2O$. Das Wasser ist zeolithartig gebunden; der Ausgleich der Ladung des Gerüstes muß auch anders erfolgen können, da in manchen Pharmakosideriten K^+ nur in Spuren nachgewiesen werden konnte. Als Beleg für die Berechtigung obiger Annahme seien Hartleys Analyse III[2] und die Zusammensetzung nach obiger Formel mit $7\,H_2O$ (beides in Molekularprozenten) wiedergegeben.

	Hartley III	Formel
Fe_2O_3	15,69	15,38
$As_2O_5 + P_2O_5$	11,34	11,54
H_2O	69,76	69,23
K_2O	3,21	3,85

Der Elementarkörper enthält eine Formeleinheit. Ein dreidimensionales Gerüst von AsO_4-Tetraedern und $FeO_3(OH)_3$-Oktaedern läßt sich gut in die Elementarzelle einbauen (Punktlagenbezeichnung nach den «Internationalen Tabellen»): As in 3(d), Fe(Al) in 4(e), O in 12(i), (OH) in 4(e) mit x_{Fe} = etwa 45°, x_0 = etwa 45°, z_O = etwa 135° und x_{OH} = etwa 315°. Kleine Verzerrungen dieses Idealgerüstes sind denkbar.

Kalium und Wasser sitzen in den großen Kanälen des Gerüstes; über ihre Positionen können keine eindeutigen Aussagen gemacht werden, dazu wäre eine erneute chemische Bearbeitung und Synthese beider Verbindungen notwendig.

Die berechneten Intensitäten entsprechen im wesentlichen den beobachteten. Das vorgeschlagene Modell steht mit den morphologischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften des Minerals in guter Übereinstimmung.

[1] G. Hägele und F. Machatschki, Fortschr. Min. *21*, 77 (1937).
[2] E. G. J. Hartley, Z. Kristallogr. *32*, 220 ff. (1900).

Die Untersuchungen wurden auf Anregung und zum Teil mit den Mitteln von Herrn Prof. Dr. F. Machatschki durchgeführt.

J. Zemann

Mineralogisches Institut der Universität Wien, den 26. Juni 1947.

Summary

Pharmacosiderite has been investigated by Laue, powder, and rotation photographs. The space group is T_d^1. From the analysis of the literature the formula $[Fe_4(OH)_4(AsO_4)_3] \cdot K \cdot 6\text{–}7\,H_2O$ has been derived. K^+ and H_2O fill up the large channels of a framework of AsO_4-tetrahedrons and $Fe_3(OH)_3O_3$-octahedrons. The intensities calculated are generally in conformity with the observation.

Der Einfluß des elektrischen Ladungszustandes der Trägerfolie auf die elektronenmikroskopische Präparation von Kolloiden

Im Verlaufe einer Arbeit[1] mit dem Ziele, die in der Literatur angegebenen Reaktionen zur Erzeugung von Vanadinpentoxydsolen[2] so in die Hand zu bekommen, daß in reproduzierbarer Weise definierte und möglichst monodisperse Sole als Testobjekte für dispersoidanalytische Methoden[3] gewonnen werden können, bereitete die Herstellung geeigneter Präparate zur laufenden elektronenmikroskopischen Kontrolle der präparativen Arbeiten einige Schwierigkeiten. Während Suspensionen und Sole von Oxyden und Hydroxyden sich meist so auf die üblichen Nitrozelluloseträgerfolien aufbringen lassen, daß brauchbare Präparate entstehen, zeigten die Vanadinpentoxydsole eine starke Tendenz zur Aggregation, so daß fast stets nur strangartige Büschel der nadel- oder fadenförmigen Partikel, selten aber Einzelteilchen, welche die Beurteilung von Gestalt und Größe der Primärteilchen erlauben, zu beobachten waren.

Das abweichende Verhalten des Vanadinpentoxydsols liegt in den elektrochemischen Eigenschaften des Sols wie auch der verwendeten Trägerfolien begründet. Die als Präparatenträger dienenden Nitrozellulosefolien sind, wie aus den Untersuchungen über das Membranpotential an derartigem Material[4] hervorgeht, infolge der Dissoziation der «Nitrozellulosesäuren» einer wässerigen Lösung gegenüber negativ geladen. Die Teilchen des Vanadinpentoxydsols ihrerseits tragen ebenfalls negative Ladungen[5] und werden daher von der Folie ab-

[1] Dissertation H. Zbinden.
[2] W. Biltz, Ber. dtsch. chem. Ges. *37*, 1095 (1904). — E. Müller, Koll. Z. *8*, 302 (1911). — G. Wegelin, Koll. Z. *12*, 25 (1912).
[3] Vgl. auch W. Feitknecht, R. Signer und A. Berger, Koll. Z. *101*, 12 (1942). — A. Berger, Koll. Z. *103*, 185 (1943).
[4] L. Michaelis, Koll. Z. *62*, 3 (1933). — Neuerdings besonders K. Sollner, J. phys. Chem. *49*, 47, 176, 265 (1945).
[5] H. Freundlich und W. Leonhardt, Koll. Beih. *7*, 194 (1915); vgl. auch W. Biltz, l.c.

gestoßen. So kommt es, daß bei der Präparation die Primärteilchen durch die eintrocknende Lösung zusammengeschoben werden (Fig. 1, 14000:1).

Das adsorptive Verhalten von geladenen Oberflächen gegenüber kolloiden Partikeln kann nun aber durch Umladung der Oberfläche verändert werden. So gelang es THIESSEN[1], zu zeigen, daß Kaolinblättchen die negativ geladenen Teilchen eines Goldsols zwar an Kanten und Ecken anlagern, nicht dagegen auf den Blättchenebenen, die durch O^{2-} und OH^{-}-Ionen des Kaolins negativ geladen sind. Adsorption auf den Blättchenebenen tritt

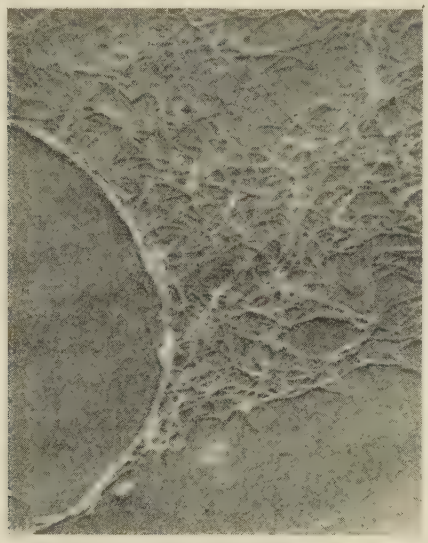


Fig. 1.

Fig. 2.

jedoch ein, wenn diese durch Zugabe von $BaCl_2$ oder einer Invertseife umgeladen worden sind. Nitrozellulosefolien können ebenfalls, wie das Studium der Membranpotentiale erwies[2], durch Adsorption von Ionen, z.B. von großen organischen Kationen, wie sie in basischen Farbstoffen und Alkaloiden vorliegen, umgeladen werden. Die umgeladenen Folien stoßen die negativ geladenen Teilchen des Vanadinpentoxydsols bei der Präparierung nicht mehr ab, sondern adsorbieren sie; die ganze Trägerfolie erscheint dann vorwiegend von isolierten Primärteilchen bedeckt (Fig. 2, 20000:1; gleiches Sol und gleiche Verdünnung wie bei Fig. 1).

Experimentelles

Das abgebildete Sol wurde durch Verseifen von Orthovanadinsäureisoamylester in Wasser[3] gewonnen und 5 Monate bei Raumtemperatur gealtert. Die Herstellung der Trägerfolien erfolgte wie üblich durch Aufbringen eines Tropfens amylalkoholischer Nitrozelluloselösung auf eine Wasseroberfläche, Auffangen der entstehenden Folie auf durchlochten Metallblättchen und Trocknen der Folien bei 60° C.

Zur Umladung blieb die auf dem Metallträger aufgespannte Folie, bei Fig. 2, 40 Stunden in einer wässerigen 2%igen Cinchoninchlorhydratlösung eingetaucht; an diese Behandlung schloß sorgfältiges Auswaschen mit Leitfähigkeitswasser und erneutes Trocknen bei 60° C an. Ähnliche Resultate lieferte die Umladung der Folien mit Chininchlorhydratlösung, Methylenblau und Rhodamin.

Die Präparierung geschah durch Aufsetzen eines Tropfens des geeignet verdünnten Sols auf die Folie und Absaugen der Flüssigkeit nach 4 Minuten. Da die Teilchen des untersuchten Vanadinpentoxydsols infolge ihrer geringen Dicke im Elektronenmikroskop kaum sichtbar sind, erfuhren die Präparate eine Beschattung mit Gold. Die Bilder zeigen das Negativ, Stellen geringerer Goldablagerung, also höherer Elektronendurchlässigkeit, erscheinen dunkler.

Der zur Präparierung der Vanadinpentoxydsole verwendete Kunstgriff, der unseres Wissens in der Literatur bisher keine Erwähnung fand, ist experimentell sehr einfach. Er ergibt sich ohne weiteres aus den Eigenschaften disperser Systeme, wenn der Präpariervorgang nicht lediglich als Sedimentation aus der Lösung auf die Folie, sondern als Adsorption der Solteilchen durch die Folie betrachtet wird. Es ist vorauszusehen, daß dieser Effekt bei jeder elektronenmikroskopischen Präparation geladener Kolloide auftritt, und zwar um so stärker, je größer die Oberflächenentwicklung und die Ladung der Teilchen ist.

Das in dieser Arbeit benutzte Elektronenmikroskop (Trüb-Täuber) stand dank der Arbeitsbeschaffungskredite des Bundes zur Verfügung.

H. ZBINDEN und K. HUBER

Anorganisch-chemisches Institut der Universität Bern, im September 1947.

Summary

It is shown that the distribution of colloid particles on a thin film suitable for examination in the electron microscope depends on the charge of the particles and the film.

[1] P. A. THIESSEN, Z. Elektrochem. *48*, 675 (1942).
[2] W. WILBRANDT, J. gen. Physiol. *18*, 933 (1935).
[3] W. PRANTL und K. HESS, Z. anorg. Chem. *82*, 103 (1913).

Preferential Solvation in Mixed Solvents

The salting-out of benzoic acid by 1·025 M sodium chloride at 25° C in the presence of 0·01 M sodium benzoate has been measured in methanol-, ethanol-, and dioxan-water mixtures. According to the electrostatic theories of DEBYE and MCAULAY[1], and of BUTLER[2], the relative salting-out, $\frac{So - S}{S}$ (where So and S are the solubilities of the non-electrolyte in the pure solvent

[1] P. DEBYE and J. MCAULAY, Physik. Z. *26*, 22 (1925).
[2] J. A. V. BUTLER, J. phys. Chem. *33*, 1015 (1929).

and the electrolytic solutions respectively) should increase on decrease of the dielectric constant of the solvent. In fact, it has been found to decrease with decreasing dielectric constant for the greater part of the range examined (Fig. 1). In pure solvents of the homologous series of normal alcohols, methyl-amyl, the salting-out of 2-cinchonine by 1·000 M sodium iodide increases with decreasing dielectric constant, in agreement with theory (Fig. 2).

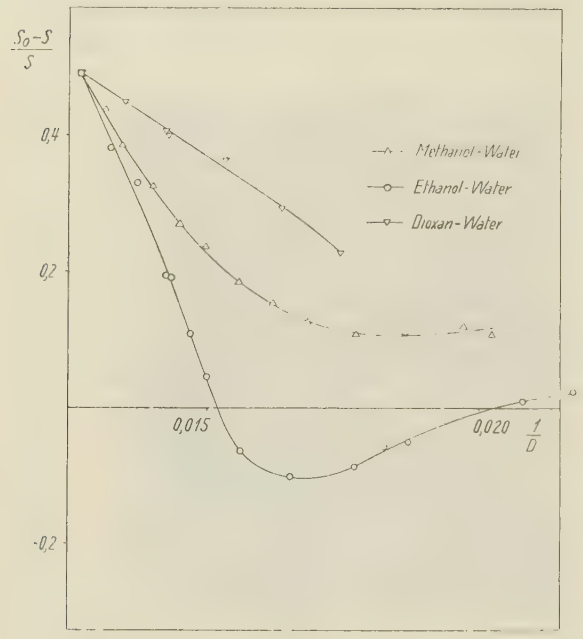


Fig. 1.

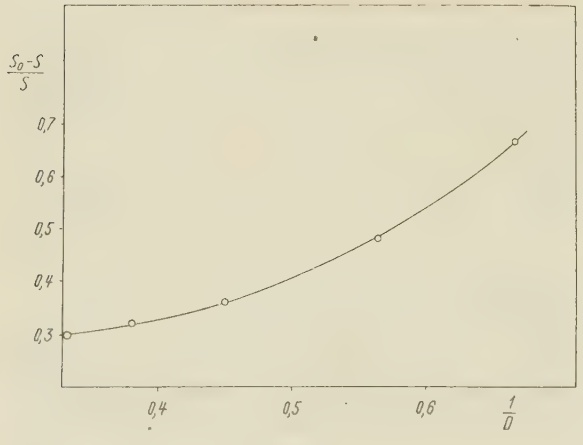


Fig. 2.

The anomalous results in mixed solvents provide striking evidence for the preferential solvation of NaCl by water in the mixtures, upon which assumption the results can be interpreted. On addition of, say, ethanol to water, the S is increased; $So - S$ however, cannot be expected to increase in a parallel manner, because although the decrease of dielectric constant increases the ion-dipole attractive forces, the alcohol, being by hypothesis not included in the solvation sheath, has its solvent power for benzoic acid relatively unaffected by the presence of the electrolyte and therefore a net decrease of $\frac{So-S}{S}$ may be reasonably expected to occur on addition of ethanol (decrease of dielectric constant). Analogous reasoning can be applied to mixtures of water with methanol or dioxan. At higher non-aqueous compositions, the organic solvent molecule may be expected to take an increasing part in the solvation sheaths of the ions, so that the effects of preferential solvation are reduced, and eventually the dependence of $\frac{So-S}{S}$ on $\frac{I}{D}$ would be expected to tend towards that theoretically predicted for homogeneous dielectric media. This tendency is seen for the alcohol molecules, but not for the relatively large, less polarisible, dioxan molecule in the range in which measurements were practicable.

J. O'M. Bockris and
H. Egan (Beit Scientific Research Fellow)

Laboratories of Inorganic and Physical Chemistry, Imperial College, London, Science Department, Acton Technical College, London, July 9, 1947.

Zusammenfassung

Es wurde die aussalzende Wirkung von *Kochsalz* auf Lösungen von *Benzoesäure* untersucht, und zwar in den Lösungsmittelgemischen: Äthylalkohol/Wasser, Methylalkohol/Wasser, Dioxan/Wasser. Entgegen den von der Theorie gemachten Voraussagen (Debye, McAuley, Butler) nimmt in allen untersuchten Fällen die aussalzende Wirkung des Elektrolytzusatzes bei *zunehmender* Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittelgemisches ab. Diese Erscheinung wird damit erklärt, daß die Ionen des Kochsalzes auch in den Mischungen, die viel organisches Lösungsmittel enthalten, fast ausschließlich durch Wassermoleküle solvatisiert sind.

Hydrogen Overpotential and the Partial Inhibition of the Corrosion of Iron

As is well known, the acid corrosion of iron in pickling baths is largely diminished by the presence of certain organic compounds which are usually ionized to cations by reaction with the acid electrolyte.

Two mechanisms for this partial inhibition have been suggested: (1) it is due to the formation of a mechanically protecting adsorbed film[1]; (2) it is due to an increase of the hydrogen activation overpotential on iron[2]. Some experiments on hydrogen overpotential already carried out[3] indicate that some increase of this quantity on iron occurs in the presence of corrosion inhibitors. No clear relation between the inhibiting properties of the organic compound and the increase of overpotential has been reported, however, and, more importantly, the measurements recorded have been carried out by the direct method[4], which would include an increased apparent overpotential, due to the presence of an adsorbed film on the cathode, independently of any increase in the true activation overpotential[5]. The evidence available does not therefore allow a distinction between the two theories to be made.

[1] E. L. Chappell, B. E. Roetheli, and B. Y. McCarthy, Ind. Eng. Chem. *20*, 582 (1928).

[2] F. H. Rhodes and W. E. Kuhn, Ind. Eng. Chem. *21*, 1066 (1929).

[3] E. Jimeno, I. Griffol, and F. R. Morral, Trans. electrochem. Soc. *69*, 367 (1926).

[4] H. Luggin, Z. physikal. Chem. *32*, 208 (1900). – A. Hickling, Trans. Faraday Soc., *33*, 1540 (1937).

[5] F. P. Bowden and J. N. Agar, Ann. Rep. chem. Soc., London *35*, 90 (1938).

Measurements of hydrogen activation overpotential have been carried out at c. d. from 10^{-3}–10^{-1} A cm^2 on iron in N/10 aqueous HCl solution, unprotected from oxygen[1], containing the inhibitors aniline, o-toluidine, quinoline, acridine, pyridine, naphthylaminè, morphine and tert. butanol, and also the corrosion activators quinone, nitrobenzene and picric acid, at concentrations in most cases of 10^{-3}, 10^{-2}, and 10^{-1} mols/l. It has been found that (1) increase of hydrogen activation overpotential occurs when corrosion is partially inhibited and a corresponding decrease occurs in the presence of activators; (2) the magnitude of the effects increase with increasing concentration and molecular complexity of the compounds; (3) corresponding measurements of the true activation overpotential of hydrogen by means of an electronic commutator[2], which eliminates the possible contribution of a transfer resistance term originating in an adsorbed film, indicate a negligible ohmic overpotential in solutions in which the largest increase of overvoltage on addition of inhibitor is observed.

It must therefore be concluded that the mechanism of the inhibition of acid corrosion by the above organic compounds is principally by means of an increase of the hydrogen activation overpotential and not by mechanical protection through an adsorbed film.

A full account of this work will be published elsewhere.

J. O'M. Bockris and B. E. Conway

Laboratories of Inorganic and Physical Chemistry, Imperial College, London, July 9, 1947.

Zusammenfassung

Es wurde die Überspannung von *Wasserstoff* an *Eisen* in Gegenwart verschiedener *Korrosionsinhibitoren* gemessen. Es zeigt sich, daß die *Überspannung* bei der Gegenwart der *Inhibitoren vergrößert* ist. Hieraus wird Folgendes geschlossen: Die Erschwerung der Korrosion durch den Inhibitor ist auf Erhöhung der Überspannung zurückzuführen. Sie beruht nicht auf der Bildung einer schützenden Schicht von adsorbierter Inhibitorsubstanz auf der Eisenprobe.

[1] The lack of protection from oxygen was intended to simulate conditions in an actual pickling bath.

[2] A. Hickling, Trans. Faraday Soc. *33*, 1540 (1937).

Purification et cristallisation de l'α-amylase de salive

La présence d'une α-amylase dans la salive a été constatée chez l'homme, le porc et le rat. Nous rapportons ici l'isolement et la cristallisation de l'α-amylase de la salive humaine. La méthode de purification se rapproche de celle de l'α-amylase de pancréas[1].

Produit de départ. En mâchant de la paraffine un homme peut produire de 50 à 100 cm^3 de salive en une heure. Cette salive contient beaucoup moins de mucoïde que celle sécrétée normalement. Pour diminuer la mousse on la recueille en présence d'un peu d'alcool n-décylique.

Purification. Toutes les opérations se font à 0° C. 1° centrifugation à 3000 t/min pendant une heure; le culot est rejeté. 2° Deux précipitations fractionnées successives par l'acétone sans tampon; l'enzyme se trouve dans les fractions entre 48 et 68 %. 3° Deux précipitations successives de la substance active par $(NH_4)_2SO_4$ à 32,5 et à 25 % de saturation. 4° Une précipitation fractionnée par l'acétone à p_H 7,9 l'amylase se trouve dans la fraction entre 50 et 70 %. 5° Remplacement de l'ion SO_4'' par l'ion CH_3COO' par des traitements avec un échangeur d'ions basiques (Wofatite M ou Amberlite IR-4B). 6° Une précipitation à l'acétone jusqu'à 70 %.

Cristallisation et recristallisation. Le culot est dissous dans très peu d'eau et la solution est laissée au froid. 90 % de la substance ont cristallisé après 48 heures. Les cristaux sont rapidement lavés plusieurs fois à l'eau froide. On les dissout en portant le p_H à 8,3 par NH_4OH 0,1 N. La solution est neutralisée et laissée à froid sur une secoueuse lente. Après 48 heures une quantité abondante de cristaux s'est formée.

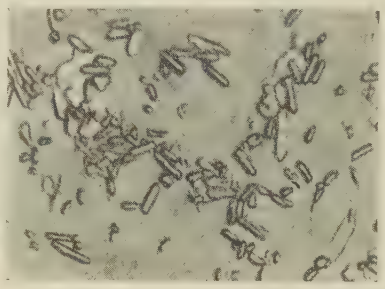


Fig. 1. α-amylase de la salive humaine cristallisée grossissement 300 fois.

Le produit cristallin donne les réactions typiques des protéines. Il se comporte à l'électrophorèse comme une substance homogène. Son activité (voir[1] page 73) est de $4{,}6 \cdot 10^3$ mg de maltose par mg d'azote. Ce quotient n'augmente plus par des recristallisations ultérieures. Les cristaux peuvent donc être considérés comme de l'α-amylase de salive pure. Le quotient d'activité par mg d'azote des cristaux est 16 fois plus grand que celui de la salive. 1 cm^3 de salive contient environ 0,5 mg d'amylase. Le rendement total en activité depuis la salive jusqu'à la première cristallisation est de 25 à 30 %.

Ce travail a été encouragé par des crédits ouverts par la Confédération en vue de créer des possibilités de travail.

K. H. Meyer, Ed. H. Fischer, P. Bernfeld et A. Staub

Laboratoire de chimie inorganique et organique de l'Université de Genève, le 12 août 1947.

Summary

The crystallization and recrystallization of human salivary α-amylase are described.

[1] K. H. Meyer, E. H. Fischer et P. Bernfeld, Helv. chim. Acta *30*, 64 (1947).

On the Electrophoretic Properties of a Purified Enterogastrone Preparation

Feng, Hou, and Lim[1] observed that neutral fat poured into the duodenum depressed the secretion of a completely denervated gastric pouch. They proved this effect to depend on a humoral factor which could be extracted from the intestinal mucosa. Kosaka and Lim[2] suggested

[1] K. H. Meyer, E. H. Fischer et P. Bernfeld, Helv. chim Acta *30*, 64 (1947); Exper. *3*, 106 (1947).

[1] T. P. Feng, H. C. Hou, and R. K. S. Lim, Chines. J. Physiol. *3*, 371 (1929).

[2] T. Kosaka and R. K. S. Lim, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *27*, 890 (1930).

the name *enterogastrone* for this secretory depressant.

This paper deals with a highly purified extract from the hog's intestine. The preparation process was mainly that recommended by Gray, Bradly, and Ivy[1]. Also cf. Greengard, Hands, Grossman, and Ivy[1], Greengard, Atkinson, Grossman, and Ivy[3], and Winberg[4].

Methods. The biological effect of the extracts was tested on dogs with vagotomized gastric pouches according to Heidenhain. As a stimulus histamine dihydrochloride was injected intravenously at a slow constant rate. For technique see Öbrink[5]. The enterogastrone preparation was injected intravenously in a massive dose, and the decrease of the gastric fluid was noted.

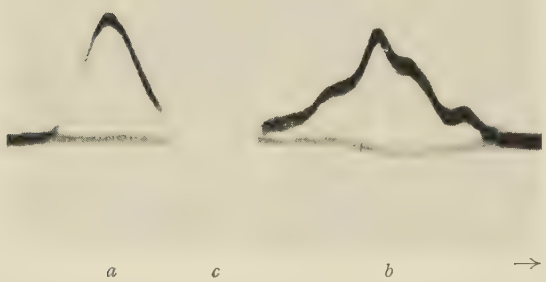
For the electrophoretic analysis the enterogastrone preparations were dissolved in citrate buffer (p_H 2·06 and 3·04), acetate buffer (p_H 4·00 and 5·44) and phosphate buffer (p_H 6·02, 6·43, and 7·42) to the final concentration of 2%. It was found most convenient not to dialyze the solution against the pure buffer system (vide infra: the discussion).

The ionic strength of the buffer systems was 0·1.

The solutions were placed in a Tiselius electrophoretic apparatus (Tiselius[6]) supplied with the Philpot-Svensson optical system (Philpot, 1938, and Svensson, 1939 and 1946)[7].

The technical data were: temperature (outside) $+0{\cdot}7^0$ C, the voltage gradient about 6 V/cm, the electric current 20 mA, and observational time about 2 hours.

Result. At p_H 4·00 one boundary was found to have no mobility (Figure, *a*) and four others to move towards the cathode (Figure, *b*). On the anode side no *rising* boundary was observed.



Exposure of the negative limb at p_H 4·00 (rising side). The cathode is in the direction of the arrow. (The white field *c* between the boundaries *a* and *b* depends upon the central glass plate separating the two electrophoretic cells.)

The rising side was cut off between the boundaries *a* and *b* and tested on the dogs. An enterogastrone effect was found in the cell with the boundary *a*, while the components in *b* were ineffective. Similar results were obtained at all the different p_Hs.

The boundaries *b* had changed their mobility direction towards the anode at p_H 7·42 and never did have any biological effect on the gastric secretion.

In order not to work with too small concentrations of the components *b*, the boundaries were allowed to reach the top of the cell and even pass it. Thus the cell was considered to contain a sufficient amount of an effective component, if present.

The separation on the descending side was never satisfactory and any tests from this limb could not be performed with a significant result.

Discussion. It seems that the secretory depressing factor in extracts from the intestinal mucosa had no or at least a very slight electrophoretic mobility between p_H 2·06 and 7·42, and the components showing mobility seemed to be ineffective in respect to the histamine-induced gastric secretion.

This result was contrary to expectation because of the experiments of Harris, Gray, and Ivy[1], in which the secretory depressing factor was destroyed by proteolysis. The result here described does not accord with the conception that enterogastrone might be a protein-like substance, nor does the observation described by Winberg[2] that enterogastrone is easily dialysable through a thin cellophane membrane. Experiments have also shown that its effectiveness survives a heating of 100° C for 90 minutes (Winberg)[3].

Any quantitative analysis of the effective component in the extract cannot be made from the electrophoretical results, as the boundary to which it probably may belong is to some extent considered to depend on the falsely resting *δ*-boundary (Tiselius)[4].

K. J. Öbrink

Institute of Physiology and Institute of Medical Chemistry, University of Uppsala, Sweden, September 3, 1947.

Zusammenfassung

1. Es wird ein Extrakt von Schweinedarm (Enterogastron), der die durch Histamin erzeugte Magensekretion herabsetzt, elektrophoretisch untersucht.

2. Die aktive Enterogastronfraktion scheint keine elektrophoretische Beweglichkeit zu besitzen.

3. Enterogastron ist wahrscheinlich keine proteinähnliche Substanz.

4. Die Resultate werden besprochen und zu früheren Untersuchungen über die Chemie des Enterogastrons in Beziehung gesetzt.

[1] J. S. Gray, W. B. Bradly, and A. C. Ivy, Am. J. Physiol. *118*, 463 (1937).

[2] H. Greengard, A. P. Hands, M. I. Grossman, and A. C. Ivy, Fed. Proc. *2*, 17 (1943).

[3] H. Greengard, A. J. Atkinson, M. I. Grossman, and A. C. Ivy, Gastroenterology *7*, 625 (1946).

[4] H. Winberg, Acta chem. Scand. In press. – The preparations have been made by Dr. Winberg in the Central Laboratory at A. B. Astra, Södertälje, Sweden.

[5] K. J. Öbrink, Acta physiol. Scand. *12*, 213 (1946).

[6] A. Tiselius, Trans. Farad. Soc. *33*, 524 (1937).

[7] J. S. L. Philpot, Nature *141*, 283 (1938). – H. Svensson, Koll. Z. *87*, 181 (1939); Arkiv Kem. Min. Geol. *22A*, No. 10 (1946).

L'action du chlorure de lithium et du sulfocyanure de sodium sur la viscosité de la nucléohistone et des extraits d'embryons d'Amphibiens

Dans une note récente, Ranzi et ses collaborateurs ont étudié les effets du chlorure de lithium et du sulfocyanure de sodium sur la viscosité d'extraits d'embryons d'Amphibiens préparés suivant la méthode de Lawrence, Needham *et al.*[1] au KCl moléculaire. Ils ont constaté que la viscosité de ces extraits est augmentée par l'addition de LiCl, tandis que NaSCN a une action opposée; ce serait sur une globuline que ces sels agiraient. Mais

[1] A. S. C. Lawrence, M. Miall, J. Needham et S. G. Shen, J. gen. Physiol. *27*, 233 (1944).

Mirsky et Pollister[1] ont démontré que lorsqu'on traite des tissus animaux par des solutions moléculaires de NaCl ou de KCl, on obtient surtout de la thymonucléohistone; en outre, Brachet et Jeener[2] ont montré que la viscosité de ces extraits est due, en ligne principale, à cette nucléohistone d'origine nucléaire. Dans ces conditions, on pouvait se demander si les sels étudiés par Ranzi *et al.*[3] n'agiraient pas plutôt sur la nucléohistone que sur une globuline issue du vitellus.

Des mesures de viscosité ont été effectuées à l'aide d'un viscosimètre à cylindre tournant de Couette, qui présente l'avantage d'avoir des gradients de vitesse de faibles valeurs et constants.

1° Nous avons préparé de la nucléohistone purifiée à partir d'érythrocytes de poule et nous l'avons redissoute dans du liquide d'Edsall.

Solution témoin: La solution initiale de protéine est diluée par un volume d'Edsall contenant 0,28 mol. de KCl au litre. La solution témoin contient donc 0,14 mol. de KCl au litre.

Solution LiCl: La solution initiale de protéine est diluée par un volume d'Edsall contenant 0,28 mol. de LiCl au litre. Cette solution contient donc 0,14 mol. de LiCl au litre.

Solution NaSCN: La solution initiale de protéine est diluée par un volume d'Edsall contenant 0,28 mol. de NaSCN au litre. Cette solution contient donc 0,14 mol. de NaSCN au litre.

De la sorte, nous préparons trois solutions de protéine isoioniques que nous pouvons strictement comparer.

Tableau I

Effets de LiCl et de NaSCN sur la viscosité de la nucléohistone

Tours/min	KCl	LiCl	NaSCN
5	3,10	3,80	3,00
10	2,00	2,20	1,90
25	1,72	2,00	1,70
50	1,66	1,90	1,60
100	1,66	1,80	1,60

On voit que l'effet de structure habituel aux solutions de molécules asymétriques se manifeste: la viscosité diminue lorsque le gradient de vitesse augmente; en outre, comme dans les expériences de Ranzi *et al.*, LiCl augmente la viscosité de la solution tandis que NaSCN la diminue.

2° Lorsqu'on projette des noyaux d'érythrocytes de poule dans une solution de NaCl ou de KCl moléculaire, on observe la formation immédiate d'un gel fortement élastique (solution rigide). On peut apprécier cette rigidité au moyen d'un pendule de torsion et l'exprimer par un module $T/T'-1$, T représentant la période d'oscillation dans l'air et T' la période dans la solution a étudier (Jeener[4] et Errera[5]).

Nous avons observé que le sulfocyanure de sodium augmente la rigidité de la solution de la nucléohistone, tandis que LiCl la diminue.

Ces mêmes solutions, après que la rigidité a été brisée mécaniquement et irréversiblement par passage à travers un orifice étroit, donnent des solutions visqueuses sur lesquelles nous avons vérifié que LiCl augmente la viscosité et que NaSCN la diminue.

Tableau II

Rigidité

Solution	$T/T'-1$
KCl	0,84
LiCl	0,50
NaSCN	1,10

3° Nous avons alors comparé deux stades du développement embryonnaire chez l'Axolotl: l'œuf insegmenté, qui ne contient que des traces de nucléohistone, et le têtard éclos, qui en renferme en abondance. Les œufs dégangués et les têtards étaient broyés finement dans du KCl 1 M et centrifugés à grande vitesse (12000 t/m) pour éliminer les graisses et le pigment. Lors du broyage, les têtards donnent une solution rigide, ce qui n'est pas le cas pour les œufs; pareille différence avait déjà été observée auparavant par Brachet et Chantrenne[1].

Tableau III

Effets de LiCl et de NaSCN sur la viscosité de l'extrait

Tours/min	KCl	LiCl	NaSCN
0,5	14,00	16,00	12,00
5,0	2,80	3,00	2,60
10,0	2,00	2,10	1,80
25,0	1,70	1,80	1,60
50,0	1,55	1,60	1,45
100,0	1,20	1,25	1,17

a) *Extrait de têtards.* Nous avons observé, comme dans le cas de la nucléohistone, un effet de structure et un accroissement de la viscosité par LiCl et une diminution par NaSCN.

b) *Extrait d'œfs.* Nous n'avons plus observé dans ce cas d'effet de structure; en outre, ni LiCl ni NaSCN n'ont manifesté d'action sur la viscosité de ces extraits. La viscosité ne dépend plus du flux et elle est, pour le témoin, de 1,111; en présence de LiCl on de NaSCN, elle est très légèrement inférieure (1,085).

Comme on le voit, ces résultats cadrent bien avec l'idée que le lithium et le sulfocyanure agissent sur la viscosité de la nucléohistone: en effet, ces ions ne manifestent d'effets que dans le cas des têtards, riches en noyaux et ils demeurent sans effet dans celui des œufs insegmentés.

Cette manière de voir a trouvé un appui complémentaire dans le fait que des dosages de la teneur en acide thymonucléique par la méthode de Schneider nous ont montré que les extraits d'embryons d'Amphibiens par KCl 1 M contiennent des quantités appréciables de cet acide dès le stade gastrula; la teneur en acide thymonucléique de ces extraits augmente naturellement à mesure que le développement progresse.

Enfin, nous avons eu recours à une méthode indirecte pour nous assurer de ce que la viscosité de structure des extraits préparés à partir des têtards est bien due à la présence d'acide thymonucléique polymérisé: si on traite

[1] A. Mirsky et A. W. Pollister, Biol. Symp. *10*, 247 (1943).

[2] J. Brachet et R. Jeener, Biochim. et biophys. Acta *1*, 13 (1947).

[3] S. Ranzi, R. Arosio, R. Citterio, P. Menotti et F. Semenza, Exper. *2*, 315 (1946).

[4] R. Jeener, C. R. Soc. biol. *138*, 1050 (1944); *140*, 667 et 689 (1946).

[5] M. Errera, Bull. Soc. Chim. biol. *28*, 472 (1946).

[1] J. Brachet et H. Chantrenne, Acta biol. Belg. *2*, 451 (1942).

ces extraits par la thymonucléodépolymérase du pancréas, l'effet de structure disparaît rapidement et complètement; ni LiCl ni NaSCN n'ont encore d'action sur la viscosité dans ces conditions.

Il semble donc bien que l'action du lithium et du sulfocyanure découverte par Ranzi[1] et ses collaborateurs porte en lieu principal sur un constituant nucléaire, *la nucléohistone*; comme ces ions ne semblent pas provoquer d'anomalies visibles du noyau et des chromosomes, il paraît peu vraisemblable que ces modifications de la viscosité de la nucléohistone soient à l'origine des troubles de la morphogénèse que ces substances suscitent.

P. Rebuffat et J. Brachet

Laboratoire de morphologie animale, Faculté des sciences de l'Université libre de Bruxelles, le 4 octobre, 1947.

Summary

(1) LiCl increases the viscosity and decreases the rigidity of nucleohistone; NaSCN has opposite effects.

(2) The effects of LiCl and NaSCN on the viscosity of amphibian embryo extracts, as observed by Ranzi and his coworkers, seem to be due to the action of these salts on nucleohistone.

[1] S. Ranzi, R. Arosio, R. Citterio, P. Menotti et F. Semenza, Exper. *2*, 315 (1946).

Die Verteilung der Na- und Cl-Ionen zwischen Blutserum einerseits, Pleurapunktat, Ascites und Liquor cerebrospinalis andererseits

Es ist ein seit langem diskutiertes Problem der Pathologie, ob die Verteilung der Na- und Cl-Ionen zwischen Blutserum und gewissen Körperflüssigkeiten eine dem Donnan-Gleichgewicht entsprechende Gesetzmäßigkeit aufweist, d. h. ob die Körperflüssigkeiten in ihrer Ionenzusammensetzung dem eiweißfreien Serumultrafiltrat entsprechen oder eine davon unabhängige Zusammensetzung haben. Nach Peters[1] sollen die Flüssigkeitsansammlungen der serösen Höhlen dem Ultrafiltrat genau entsprechen, wogegen der Liquor und Humor aqueus zwar dem Ultrafiltrat sehr nahestehen, jedoch manche Verschiedenheiten aufweisen. So z. B. ist der Gehalt an Glukose, Karbamid und Kreatinin im Liquor entschieden niedriger als im Serum, was schwer mit dem Charakter eines einfachen Ultrafiltrates in Einklang zu bringen ist. Peters[1] betont auf Grund zahlreicher Beobachtungen den höheren Cl′- und niedrigeren Na·-Gehalt des Liquors, wobei er bemerkt, daß die Diskrepanz größer ist als im Falle der Pleura- bzw. Bauchpunktate.

Wir untersuchten 13 Bauchpunktate, 7 Pleurapunktate und 19 Liquoren auf ihren Gehalt an Na·, Cl′ und Eiweiß, bestimmten den Albumin/Globulin-Quotienten und ebenso die entsprechenden Daten zur selben Zeit auch im Serum des gleichen Patienten. Der Na·- und Cl′-Gehalt ist in maeq. pro Liter Wasser berechnet, auch wurde der Eiweißgehalt der Lösungen in Betracht genommen und abgerechnet. Cl′ wurde nach Rusznyák, Na· nach Bálint und Kabdebó[2], Eiweiß nach Cleghorn und Jendrassik[3] bestimmt.

[1] J. P. Peters, Body Water. Ed. Bailliere, Tindall & Cox London 1935.

[2] P. Bálint und H. Kabdebó, Exper. *3* (im Druck).

[3] R. A. Cleghorn und L. Jendrassik, Biochem. Z. *274*, 189 (1934).

	1 Cl_s/Cl_f	2 Na_f/Na_s	3 r_{sf}
Ascites	1,00±0,03 (0,96—1,03) $k_{1-3} = 1,2$	0,96±0,04 (0,90—1,01) $k_{2-3} = 0$	0,96±0,01 (0,94—0,98)
Pleura-punktat	0,97±0,03 (0,91—1,01) $k_{1-3} = 0$	0,99±0,05 (0,95—1,11) $k_{2-3} = 0,4$	0,97±0,01 (0,95—0,98)
Liquor	0,91±0,04 (0,83—1,06) $k_{1-3} = 0,3$	0,95±0,04 (0,83—1,02) $k_{2-3} = 0,8$	0,92±0,01 (0,90—0,95)

In der Tabelle geben wir die Mittelwerte der Ionenverhältnisse wieder, wobei nach dem gewöhnlichen Gebrauch $Cl_{Serum}/Cl_{Außenflüssigkeit}$ bzw. $Na_{Außenflüssigkeit}/Na_{Serum}$ berechnet wurde. Nach dem Mittelwert befindet sich der mittlere Fehler, in Klammern die Minimal- und Maximalwerte.

Die Bedeutung der Zahl r_{sf} ist folgende: auf Grund der van Slykeschen Formel[1] kann die Verhältniszahl $Cl_{Serum}/Cl_{Flüssigkeit}$ aus dem Cl′-Gehalt des Serums und aus dem Eiweißgehalt des Serums und der Außenflüssigkeit berechnet werden. Gesetzt also, daß die Verteilung der Cl- und Na-Ionen dem Donnan-Gleichgewicht entspricht, muß die berechnete und die tatsächlich gefundene Verhältniszahl identisch sein. Kolonne 3 der Tabelle enthält die Mittelwerte der berechneten Verhältniszahlen, wobei k_{1-3} bzw. k_{2-3} die signifikante Differenz der gefundenen und berechneten Mittelwerte bedeutet. Letzterer Wert ist in allen Fällen kleiner als 1, 2, also ist die Identität der beiden Werte höchst wahrscheinlich.

Bloß in einem einzigen Falle ist die Diskrepanz zwischen berechneten und gefundenen Werten entschieden größer, als es den Fehlergrenzen der angewandten Methoden entspräche; es handelt sich um einen Fall von Leberzirrhose bei einer 72jährigen Patientin, welche die Klinik vierwöchentlich wegen Punktion einer großen Bauchwasseransammlung aufsuchte. Durch Punktion wurden ihr vierwöchentlich bis zu 20 l Ascites entnommen und unsere Analysen wurden bei derselben Patientin dreimal wiederholt. Die berechneten Verhältniszahlen waren 0,94, 0,93 und 0,94, die für Cl′ gefundenen 0,87, 0,70 und 0,73 und die für Na gefundenen 1,10, 1,23 und 0,99. Dies bedeutet, daß das Bauchwasser in diesem Falle viel mehr Cl′ und viel weniger Na· enthält, als gemäß dem Donnan-Gleichgewicht zu erwarten wäre.

Zusammenfassung. Es wurden 13 Bauchpunktate, 7 Pleurapunktate und 19 Liquoren auf ihren Gehalt an Na·, Cl′, Eiweiß und Albumin/Globulin-Quotient, untersucht und zur selben Zeit dieselben Daten im Serum des gleichen Patienten bestimmt. Die gefundene Verteilung der Cl′- und Na·-Ionen im Serum und Außenflüssigkeit stimmt vollkommen mit der aus der van Slykeschen Formel auf Grund des Donnanschen Ionengleichgewichtes berechneten überein, und zwar nicht nur im Falle der Pleura- und Bauchpunktate, sondern auch für den Liquor cerebrospinalis. Es erübrigt sich also jede Folgerung, welche aus dem Cl′- bzw. Na·-Gehalt der genannten Flüssigkeiten irgendwelche diagnostische Schlüsse zu ziehen wünscht, da

[1] D. D. van Slyke, H. Wu und H. D. McClean, J. biol. Chem. *56*, 765 (1923).

dieselben nur durch den Cl'- bzw. Na'-Gehalt des Serums und den Eiweißgehalt des Serums und der betreffenden Flüssigkeit bestimmt werden.

P. Bálint und G. Benkő

Medizinische Klinik der Erzsébet-Universität in Pécs, den 15. September 1947.

Summary

We determined the sodium, chloride, and protein content of sera on the one hand, and the same constituents in pleural, ascitic and cerebrospinal fluid on the other. We found the proportions of sodium and chlorine of serum and corresponding fluid to be identical with the proportions calculated according to van Slyke's formula on the basis of the Donnan equilibrum. Consequently one cannot draw any diagnostic conclusions from the sodium or chlorine content of these fluids, as they depend solely on the sodium or chlorine content of the serum and the protein content of the serum and fluid.

Cytochrom-c-Gehalt der toxisch bedingten Fettleber

Bei der Extraktion von Cytochrom c aus der Leber hat sich gezeigt, daß um so mehr Cytochrom gewonnen werden kann, je glykogenärmer die Leber ist[1] [2]. Es ist unklar ob die Ursache dafür in der Extraktionsmethode liegt oder ob so rasch erfolgende Schwankungen von Cytochrom c in der Leber möglich sind. Im Zusammenhang damit schien es von Interesse zu sein, Cytochrom c in der sozusagen glykogenfreien, toxisch bedingten Fettleber zu untersuchen.

Es wurde einer Reihe von Kaninchen zweimal pro Woche 0,5–1,5 cm³ 0,5%iges Phosphoröl subkutan eingespritzt. Nach 2–3 Injektionen zeigte die Urinuntersuchung bei allen Tieren deutliche Zeichen eines Leberschadens. Die Hämoglobin- und Erythrozytenwerte stiegen bis ans Ende der zweiten Woche an und fielen nach drei Wochen wieder auf die Norm zurück. Überlebten die Tiere diesen Zeitpunkt, so entwickelte sich eine progressive Anämie.

Die Resultate der Cytochrom-c-Bestimmung nach unserer Methode[2] gehen aus der Tabelle hervor.

Zum Vergleich haben wir auch einige Kaninchen durch 3tägiges Hungern möglichst glykogenarm gemacht und Leberwerte von 2,7–3,5 erhalten. Auch gegenüber diesen Daten sind die Werte der Fettleber noch um 100% erhöht.

In der 1. Gruppe zeigt sich nach einer 3 Wochen dauernden Vergiftung eine sehr starke Leberverfettung. Die Cytochromwerte sind mit Ausnahme der Leber gegenüber den Kontrolltieren etwas herabgesetzt. In der Leber findet sich eine Steigerung des Cytochromgehaltes um das Dreifache, wenn mit den nach einer 15stündigen Hungerperiode erhaltenen Leberwerten verglichen wird.

In der 2. Gruppe wurde eine massive Vergiftung durchgeführt, die die Kaninchen kaum länger als 5 Tage überlebt hätten. Auch hier findet man schon die typische Fettleber. Die Cytochromwerte sind eher etwas erhöht (Parallele zur gleichzeitigen Hämoglobinsteigerung?), doch sind die Werte nicht zahlreich genug um Schlüsse zu ziehen.

Die 3. Gruppe umfaßt 3 Tiere, die eine 36 Tage dauernde Intoxikation überlebten, aber nur eine geringe Leberverfettung aufweisen. Der Cytochromgehalt der Gewebe schwankt um die Kontrollwerte. In der Leber ist er wie in der 2. Gruppe erhöht und entspricht etwa den Hungerwerten. Trotz der Anämie ist eine kompensatorische Cytochromsteigerung zu vermissen, wohl deshalb, weil die Anämie nur sehr kurz gedauert hat.

Cytochrom c bei Phosphorvergiftung

Grad der Leberverfettung	Lebergewicht in % des Körpergew.	Wassergehalt der Leber in %	Cytochrom c in mg % von Frischgewebe				
			Herz	Niere	Muskel *	Gehirn	Leber **
1. Gruppe: 2,5–4 cm³ Phosphoröl in 17–22 Tagen							
+++	2,8	68	13,4	6,0	3,1	2,5	7,1
+++	2,4	–	9,8	5,1	–	1,9	5,7
+++	2,5	–	20,8	4,7	3,5	3,8	5,0
+++	2,2	71	18,2	6,5	2,6	2,6	7,8
++	4,0	68	19,2	6,7	2,4	2,9	7,2
++	3,5	66	21,5	5,6	2,5	3,2	7,1
Mittel:	*2,9*	*68*	*17,2*	*5,8*	*2,8*	*2,8*	*6,6*
2. Gruppe: 3 cm³ Phosphoröl in 5 Tagen							
++	3,8	76	17,9	5,1	2,9	3,0	3,6
++	3,1	75	22,0	7,2	5,1	3,4	3,4
++	2,9	68	22,3	9,9	3,3	3,3	3,5
Mittel:	*3,3*	*73*	*20,7*	*7,4*	*3,8*	*3,2*	*3,5*
3. Gruppe: 10 cm³ Phosphoröl in 36 Tagen							
(+)	3,6	73	18,0	4,3	2,1	1,4	3,5
+	2,4	74	20,5	8,7	2,6	3,1	3,3
(+)	3,0	75	19,9	6,6	2,8	2,4	3,4
Mittel:	*3,0*	*74*	*19,5*	*6,5*	*2,5*	*2,3*	*3,4*
4. Gruppe: 10 Kontrolltiere							
Mittel:	*3,2*	*72*	*20,0*	*5,8*	*2,9*	*3,0*	*2,1*
Streuung***			*2,6*	*1,1*	*0,6*	*0,7*	*0,7*

* Nur rote Muskulatur der Adduktoren.

** 15 Stunden lange Hungerperiode.

*** $s = \sqrt{\Sigma d^2/n-1}$.

Es zeigt sich also, daß der Cytochromgehalt der meisten Gewebe durch die Phosphorvergiftung kaum beeinflußt wird, daß aber der Cytochromgehalt der Fettleber ganz enorm ansteigt. Diese Vermehrung braucht eine gewisse Zeit und ist dehalb in der 2. Gruppe noch nicht festzustellen. Führt die Vergiftung nicht zu einer ausgesprochenen Fettleber, so steigt der Cytochromgehalt der Leber kaum an (3. Gruppe).

Die Cytochromvermehrung in der Fettleber ist nicht nur scheinbar, da sich weder das relative Lebergewicht noch der Wassergehalt maßgebend verändern. In Wirklichkeit müßten die Werte wohl noch höher angesetzt werden, da ein großer Teil der Leber nicht aus atmenden Zellen, sondern aus Depotfett besteht.

Eine interessante Parallele zu diesen Befunden bilden die Untersuchungen von Meier und Thönes[1], die für die Fettleber nach Phosphor- oder Chloroformvergiftung eine gegenüber der Norm um 50% erhöhte Atmung feststellen konnten. Es entspricht also, wie es theoretisch

[1] O. Rosenthal und D. L. Drabkin, J. biol. Chem. *143*, 437 (1943).

[2] A. Prader und A. Gonella, Exper. *3*, 462 (1947).

[1] R. Meier und E. Thoenes, Arch. exp. Path. *169*, 655 (1933).

zu erwarten ist und wie am Beispiel der Thyroxinwirkung gezeigt wurde[1], der erhöhten Gewebeatmung auch ein erhöhter Cytochrom-c-Gehalt.

Es erhebt sich die Frage, ob auch die ernährungsbedingte Fettleber vermehrtes Cytochrom c aufweist und wieweit überhaupt die Atmungsfermente der Leberzelle von der Ernährung abhängig sind (vgl. auch die Arbeiten von Axelrod et *al.*[2]).

A. Prader

Medizinische Poliklinik Lausanne, den 26. Juli 1947.

Summary

The fatty liver in phosphorus poisoning of rabbits shows a marked increase of cytochrome c.

[1] A. Tissières, Archives int. Phys. *54*, 305 (1946).

[2] A. E. Axelrod, K. F. Swingle und C. A. Elvehjem, J. biol. Chem. *145*, 297 (1942).

Experimentelle Übertragungsversuche von Darmausscheidungen leberdystrophie- und hepatitis-epidemica-kranker Menschen auf Wellensittiche *(Melopsittacus undulatus)*[1]

Findlay und Willcox[2], Findlay und Martin[3], Neefe und Stokes[4], dann Havens[5] und seine Mitarbeiter, Dorland und Davies, Sawyer und Mitarbeiter[6] u. a. haben an Menschen Hepatitis-Übertragungsversuche durchgeführt. Entweder wurde mit Nasen/Rachen-Spülwasser oder mit Duodenalsaft, auch mit Harn/Stuhl-Extrakten und mit Serum peroral oder parenteral versucht, eine Infektion zu erzeugen. Alle diese Experimente fielen mehr oder weniger positiv aus, zum mindesten konnten hepatitisähnliche Erkrankungen beobachtet werden.

Experimentell die Übertragbarkeit bei den Laboratoriumstieren zu beweisen, war nicht möglich. Engel[7] berichtet, daß es einzig Andersen gelang, durch Verfütterung von Duodenalsaft hepatitiskranker Menschen bei Schweinen einen Ikterus zu erzeugen. Das gleiche hat er auch durch intravenöse Blutübertragung von Ikteruskranken erreicht.

Durch eine bestimmte Diät soll bei Ratten eine Leberdystrophie erzeugt werden können. Wie Popper[8] berichtet, ist es gelungen, durch Verfütterung von Allylformiat ein dem Icterus catarrhalis bzw. der akuten Leberdystrophie verwandtes Krankheitsbild hervorzurufen.

Als wir im Herbst 1946 eine größere und sehr schwere Epidemie von Hepatitis und Leberdystrophie im pathologisch-anatomischen Institut der Universität Basel beobachten konnten und dieses Material systematisch untersucht haben (Werthemann und Bodoky[1]), erhielten wir von einem Tierarzt einen Mönchssittich (*Myopsittacus monachus*) zur Untersuchung. Die pathologisch-anatomische Untersuchung dieses Tieres ergab, daß eine Leberdystrophie vorgelegen hatte, die mit dem Bild der menschlichen Leberdystrophie weitgehend übereinstimmte (Abb. 1). Dieser Zufallsbefund brachte uns auf den Gedanken, zu versuchen, diese Leberleiden experimentell auf Sittiche zu übertragen.

Nach verschiedenen Methoden wurde versucht, eine Übertragung des infektiösen Stoffes auf diese Vögel zu erzeugen. In erster Linie wurde Stuhlextrakt hergestellt, in ähnlicher Weise wie es von Trask, Vignée und Paul[2] für die Übertragung des Poliomyelitisvirus angegeben worden ist.

Technik. Es wurde Stuhl von eben erkrankten Patienten im sogenannten präikterischen Stadium verwendet oder von solchen, bei denen der Ikterus erst aufgetreten war. Das Material wurde, soweit dies durchführbar war, steril verarbeitet, in steriler Schale im Eisschrank aufbewahrt. Am folgenden Tag wurden ca. 120 cm³ physiologischer, steriler Kochsalzlösung beigefügt, die Masse umgerührt und die Suspension während 2 Stunden zur Sedimentierung im Eisschrank behalten. Mit einer Pipette wurden 90 cm³ in ein Glas übertragen, als bakterizides Agens wurden 13 cm³ Äther *pro narcosi* hinzugefügt und die Lösung nochmals über Nacht im Eisschrank aufbewahrt. Am folgenden Morgen wurde die Flüssigkeit während 2 Stunden bei 3000 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert und zum Teil durch einen Chamberlain-Filter filtriert.

Je 2 Wellensittichen wurde entsprechend ihrem Körpergewicht eine Menge von 0,4—0,8 cm³ dieses Filtrats

[1] A. Werthemann und G. Bodoky, Schweiz. Z. path. Bakt. *10*, Suppl. 176 (1947).

[2] J. D. Trask, A. J. Vignée und J. R. Paul, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *38*, 148 (1938).

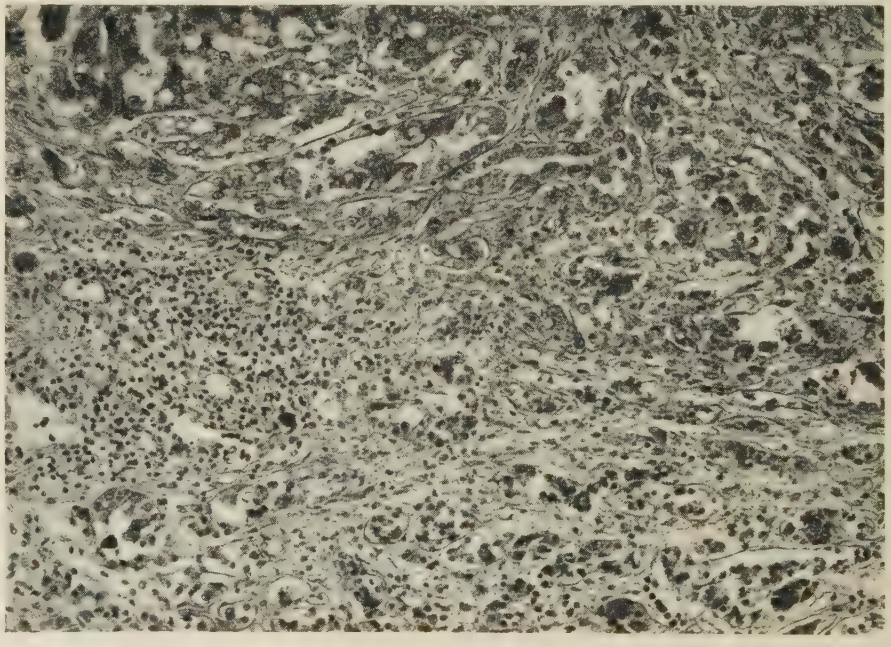


Abb. 1. Schwere Leberdystrophie bei einem Sittich. Starker Parenchymuntergang. Allgemeine entzündliche Infiltration. Geringe Neubildung von Bindegewebe. 250mal vergrößert. HE-Färbung. E.N. 6641/45.

[1] Diese Arbeit wurde durch Gewährleistung eines Stipendiums der Roche-Studien-Stiftung (Basel) ermöglicht.

[2] G. M. Findlay und R. R. Willcox, Lancet *1*, 212 (1945).

[3] G. M. Findlay und N. H. Martin, Lancet 244, 678 (1943).

[4] J. R. Neefe, J. Stokes und S. S. Gellis, Am. J. med. Sci. *210*, 561 (1945).

[5] W. P. Havens u. a., Lancet 248, 202 (1945).

[6] W. A. Sawyer und Mitarbeiter, Am. J. Hyg. *39*, 332; *40*, 35 (1944).

[7] M. Engel, Praxis *5*, 53 (1942).

[8] H. Popper, Z. klin. Med. *131*, 160 (1937).

in die Pektoralmuskulatur injiziert (Vögel Nrn. 26—38). In gleicher Weise wurde auch nichtfiltrierter Stuhlextrakt verwendet (Vögel Nrn. 8—20).

Gleichzeitig erhielt je ein anderer Wellensittich an 4 aufeinanderfolgenden Tagen *per os* 0,3—0,4 cm³ des nichtfiltrierten Stuhlextraktes (Nrn. 40—46).

Wir konnten die Versuchstiere täglich 2—3mal längere Zeit beobachten. 7 Wochen lang zeigten sich bei keinem

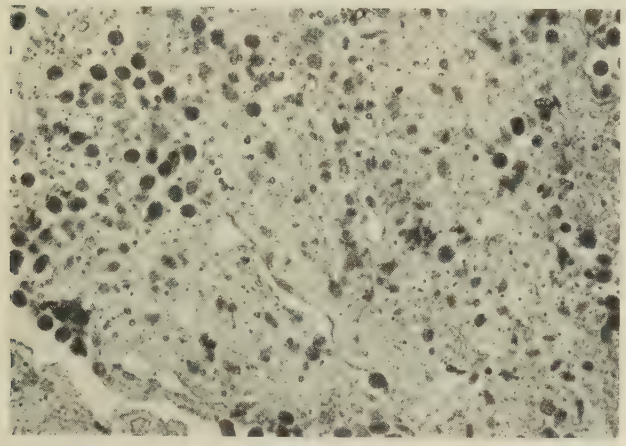


Abb. 2. Sittich mit frischen Leberzelldegeneraten und Kernverlust. Auflösung von Zellen in den zentralen Partien. 450mal vergrößert. HE-Färbung. E. N. 6641/45.

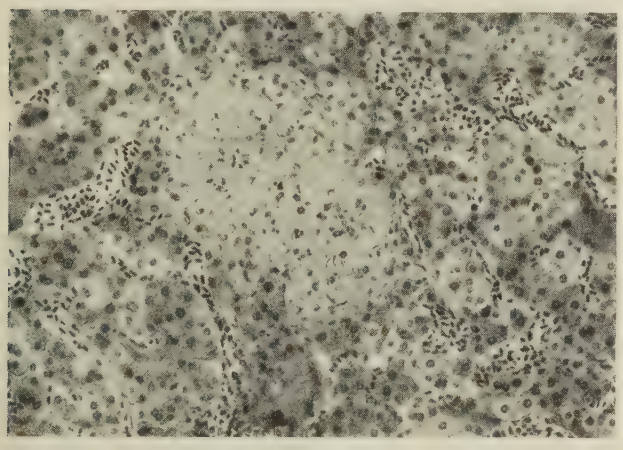


Abb. 3. Wellensittich. Fleckig verteilte Leberzellschwellungen mit Kerndegeneration. Umschriebene, z. T. bindegewebig umgeänderte Gewebsnekrose. 250mal vergrößert. HE-Färbung. (Tier Nr. 40.)

der mit Stuhlextrakt behandelten Vögel irgendwelche Krankheitserscheinungen. In der 8. Woche waren zuerst bei einem, später noch bei mehreren Tieren, deutliche Krankheitserscheinungen zu beobachten: Nahrungsverweigerung, aufgeplustertes Gefieder, Bewegungseinschränkungen. Die Vögel saßen meistens in einer Ecke des Käfigs und steckten den Kopf unter die Flügel. Bei der pathologisch-anatomischen Untersuchung fanden sich in diesem Stadium keine wesentlichen Veränderungen; die Leber war makroskopisch vergrößert.

Vogel Nr. 10, nicht filtrierter Stuhlextrakt, S.N. 12:
Leber: Leberzellen degenerativ verändert, grob- und mittelgrobtropfige Verfettung, Vakuolenbildungen, Kernveränderungen. Stellenweise Retikulumzellen etwas vergrößert, eigentliche größere Gebiete ergreifende Zerfallsherde finden sich nicht. Hie und da kleine Zelluntergänge erkennbar mit schwacher und undeutlicher Färbbarkeit.

Kontrolltier Nr. 10, S.N. 29:
Leber: entspricht dem Bau des Versuchstiers weitgehend, starker Blutgehalt, einzelne Leberzellen etwas vakuolig verändert und verfettet, hauptsächlich feintropfiges Fett in Leberelementen eingelagert; selten in Glissonscher Kapsel, Ansammlungen von Rundzellen.

Nach 3, manchmal auch erst nach 4—5 Tagen, besserte sich der Zustand der erkrankten Tiere. Sie fingen von neuem an zu fressen und wurden wieder lebhaft. Manchmal traten Remissionen ein, die aber gewöhnlich nur 1—2 Tage dauerten.

3 Monate nachdem die letzten Tiere geimpft worden waren, wurden alle diejenigen, die einmal Krankheitserscheinungen gezeigt hatten, getötet und pathologisch-anatomisch untersucht, gleichzeitig auch ein nicht behandeltes Kontrolltier.

Makroskopisch waren nie irgendwelche Veränderungen festzustellen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Vögel, die mit nichtfiltriertem Stuhlextrakt injiziert wurden, konnten wir folgende Beobachtungen feststellen:

Vogel Nr. 12, S.N. 28:
Leber: Gewebe gleichmäßig angefärbt, blutreich. Elemente zum Teil mit Vakuolenbildungen, selten Kernveränderungen. Zellgrenzen etwas undeutlich.

Vogel Nr. 11, S.N. 30:
Leber: fleckweise Verfettung. Färbbarkeit der Zellen unterschiedlich, Kernstrukturen undeutlich.
Bei den mit filtriertem Stuhlextrakt behandelten Tieren haben wir makroskopisch folgende Befunde erhoben:

Vogel Nr. 30, S.N. 15:
Leber: sehr blutreich, Färbbarkeit der Zellen unterschiedlich. Einzelne Zellen blaß ohne deutliche Struktur. Größere Nekrosen fehlen Hie und da Leberzellen mit leichten Kernumänderungen und Vakuolenbildungen.
Herzmuskel: ungleiche Färbung der Fasern, Muskelfasern fragmentiert mit Vakuolenbildungen.

Vogel Nr. 31, S.N. 40:
Leber: verfettet, selten Kernverlust. Zellkerne schlecht färbbar. Retikulumzellwucherungen.

Kontrolltier Nr. 30, S.N. 16:
Leber: ohne Nekrosen, Zellblähungen mit Verfettungen.
Herzmuskel: blutreich ohne zellige Infiltrate.

Tier Nr. 32, S.N. 42:
Leber: Vakuolenbildungen, Färbbarkeit ungleich. Zellgrenzen undeutlich. In Epithelien feintropfig Fett eingelagert. Selten auch kleine Rundzellenansammlungen in der Kapsel.

Tier Nr. 33, S.N. 43:
Leber: Vakuolenbildungen, Kernstruktur undeutlich. Geringe Lipoideinlagerungen.

Tier Nr. 40, S.N. 52:
Leber: starke Stauung mit Blutaustritten. Leberzellen eigenartig homogen. Zellgrenzen aufgehoben ohne eigentliche Kernstrukturen. Mehrfach kleine umschriebene nekrotische Herde mit Granulozytenansammlungen.

Tier Nr. 41, S.N. 53:
Leber: Stauung, stärkere Ödembildung. Epithel trüb geschwollen Kernstruktur undeutlich, keine eigentlichen Lebernekrosen. Feine Verfettung.

Kontrolltier Nr. 40, S.N. 54:
Leber: Struktur überall gut erkennbar, weder Nekroseherde und Rundzellansammlungen noch Verfettung.

Unabhängig von diesen Übertragungsversuchen mit Darmausscheidungen wurde bei den gleichen Tieren eine zweite Versuchsanordnung getroffen, indem diesen Vö-

geln nur ein besonderes Futter verabreicht wurde. Es ist angegeben worden, daß bei einer Verfütterung von Wikkensamen bei diesen Tieren eine der Leberdystrophie entsprechende Leberschädigung entstehen soll. Es sollte also bei dieser zweiten Versuchsanordnung die Frage geprüft werden, ob durch eine besondere Nahrung eine Leberdystrophie erzeugt werden könne.

Bei der ersten Serie haben wir nach 2 Tagen bei 3 von 5 Tieren (Vögel Nrn. X—XV) eine leichte Plusterung des Gefieders beobachten können, die am folgenden Tag noch zunahm, am 4. Tag nach dem Beginn mit der Verfütterung sind 3 der 5 verwendeten Versuchstiere eingegangen. Bei der makroskopischen Untersuchung konnte man nichts Besonderes feststellen.

Spätere, unter gleichen Bedingungen durchgeführte Kontrollen ergaben außer Aufplustern des Gefieders in der 1. Woche keine pathologischen Reaktionen, obwohl diese Tiere die Nahrung während 3 Monaten erhalten haben (Vögel Nrn. XX—XXIII).

Fütterungsversuche mit Wickensamen:

Tier Nr. X, S.N. 1:
Lunge: stark gestaut, feine Blutungen in Alveolen.
Magen: intaktes Epithel, ohne entzündliche Infiltrate.
Myokard: blutreich, leicht fragmentiert.
Leber: umschriebene kleine Zelluntergänge, einzelne Elemente degenerativ verändert. Beinahe granulomartige Degenerationsherde.

Tier Nr. XI, S.N. 2:
Leber: starke Blutüberfüllung, Ausweitung der Kapillaren, teilweise Nekrose einzelner Elemente.

Tier Nr. XII, S.N. 3:
Leber: Vakuolenbildungen von Leberzellen. Dissoziation mit Zelluntergängen.

Tier Nr. XX, S.N. 17:
Leber: feine Vakuolenbildungen, zum Teil ausgesprochene Verfettung. Leberzelluntergänge mit Kernverlust und eigenartiger Homogenisierung größerer Gebiete, ohne zellige Reaktion.

Tier Nr. XXI, S.N. 18:
Leber: blutreich, geringe Zellverfettungen, keine Nekrosen.

Die Resultate unserer Experimente scheinen bescheiden. Die Epidemie von Leberdystrophie in Basel war insofern atypisch, als nur vereinzelte Infektionsketten bei den Erkrankten festzustellen waren, wie auch aus den Arbeiten von Staub[1] und Müller[2] hervorgeht. Es bleibt deshalb die Frage offen, ob nicht eine bis jetzt unbekannte exogene Noxe hier anzuschuldigen sei, vielleicht ein Stoff, der mit Nahrung aufgenommen wurde.

Bei der oben angegebenen Lebererkrankung ist nicht sicher erwiesen, ob tatsächlich eine Virusinfektion in Frage kommt. Die Verhältnisse sind darum nicht ohne weiteres mit den Untersuchungen über Poliomyelitis zu vergleichen, wie sie Trask, Vignée und Paul[3] mit großem technischem Aufwand bei der Heine-Medinschen Krankheit durchgeführt haben. Der Befund von bestimmten Leberschädigungen mit kleinen Nekrosen läßt aber doch den Schluß zu, daß eine Leberschädigung durch Übertragung von infektiösem Material erzeugt werden kann. Die Experimente der Übertragung dieser Krankheit auf Wellensittiche fortzusetzen scheint berechtigt, da es sich hier um ein Tier zu handeln scheint, bei dem solche Lebererkrankungen erzeugbar sind.

G. Bodoky

Pathologisches Institut der Universität Basel, den 2. Oktober 1947.

[1] H. Staub, Schweiz. med. Wschr. *28*, 623 (1946); Helv. med. Acta *14*, 334 (1947).

[2] Th. Müller, Schweiz. med. Wschr. *77*, 796 (1947).

[3] J. D. Trask, A. J. Vignée und J. R. Paul, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *38*, 148 (1938).

Summary

Report on experiments in which parakeets (*Melopsittacus undulatus*) were inoculated with extracts from the stool of patients with hepatitis. Transitory disease symptoms could be found in some animals. Microscopically a certain degree of degeneration and necrosis of the liver cells could be demonstrated.

In another series the attempt was made to produce a hepatic dystrophia in parakeets by means of special feeding (sweet-pea seeds). The results varied; in some cases a slight necrosis of the liver occurred.

PRO LABORATORIO

Die spektrophotometrische Bestimmung von Cytochrom *c* im Gewebe

Im Laufe der in der Poliklinik Lausanne in den letzten Jahren durchgeführten Untersuchungen über das Vorkommen von Cytochrom c unter normalen und pathologischen Bedingungen wurden die bisher gebräuchlichen spektrophotometrischen Bestimmungsmethoden[1] auf ihre praktische Brauchbarkeit hin geprüft. Es hat sich dabei fast von selbst eine Methode entwickelt, die neben kleineren Verbesserungen die Vorteile der bisherigen Methoden in sich vereinigt, einfach durchzuführen ist und zufriedenstellende Resultate gibt.

Prinzip

Mechanische Eröffnung der Zellen, Extraktion des Cytochroms in saurer Lösung, Entfernung von störenden Pigmentproteinen mit $(NH_4)_2SO_4$, Fällung des Cytochroms mit CCl_3COOH, spektrophotometrische Bestimmung von Ferrocytochrom c in alkalischer Lösung auf Grund der Extinktionsdifferenz zwischen den Wellenlängen 550 mμ und 560 mμ.

Praktische Durchführung

1. *Extraktion:* 0,2–30 g (*a*) gut zerkleinertes, frisches Gewebe wird mit einem bestimmten Volumen (z. B. 0,5–1 cm³) feinsten Quarzsandes (es muß bekannt sein, wieviel Wasser er aufsaugen kann) und etwas destilliertem Wasser zu einer breiartigen, homogenen Masse zerrieben. Unter fortwährendem Mischen und Zerreiben wird pro g Frischgewebe zuerst 1,25 cm³ H_2SO_4 n/1 und dann 0,5 cm³ NH_4OH 2n zugegeben. Bei Ausgangsmengen unter 2 g wird wie für 2 g verfahren. Die homogene Masse wird 20 Minuten stehengelassen, nochmals gut durchgemischt und zentrifugiert. Die Gesamtmenge (*b*) und die Menge der überstehenden Flüssigkeit (*c*) werden bestimmt.

2. *Ausfällung von Hämoglobin:* Der abgegossenen trüben Flüssigkeit wird das gleiche Volumen $(NH_4)_2SO_4$ 50% zugefügt, und das Ganze während 10 Minuten bei einer Temperatur von 55° C gehalten. Nach dem Erkalten wird das Gemisch filtriert.

3. *Ausfällung von Cytochrom c:* Auf je 10 cm³ des klaren Filtrates werden 1 cm³ CCl_3COOH 90% zugegeben und gut durchgemischt. Beim Stehenlassen in der Kälte entsteht nach ½–3 Stunden eine flockige Ausfällung, die das rotbraune Cytochrom c enthält. Bleibt aus-

[1] A. Fujita, T. Hata, J. Numata und M. Ajikasa, Biochem. Z. *301*, 376 (1939). – R. Junowicz-Kocholaty und T. R. Hogness, J. biol. Chem. *129*, 569 (1939). – V. R. Potter und K. P. Dubois, J. biol. Chem. *142*, 417 (1942). – A. Gonella, Dissertation, Lausanne 1943. – O. Rosenthal und D. L. Drabkin, J. biol. Chem. *143*, 437 (1943).

Cytochrom c: Mittelwerte (10 Tiere) und Streuung ($s = \sqrt{\Sigma d^2/n-1}$)

	Myokard	Niere	Muskel	Gehirn	Leber
Kaninchen	20,0±2,6	5,8±1,1	2,9±0,6①	3,0±0,7	2,1±0,7③
Ratte	30,1±8,6	21,1±5,9	7,4±1,7	4,3±1,0	7,4±1,8③
Ratte[1]②	41,8	26,0④	12,6	5,9	5,4
Ratte[2]②	29,9	19,5	7,6	3,9	7,1
Ratte[3]	44,7	35,2④	9,8	8,2	22,3

① Rote Adduktorenmuskulatur
② Auf Molekulargewicht 13000 umgerechnet
③ 15 Stunden lange Hungerperiode
④ Nierenrinde (cytochromreicher)

nahmsweise die Lösung klar, so wird noch etwas Säure zugefügt und das Ganze nochmals in die Kälte gestellt, bis die Ausfällung eintritt. Längeres Stehenlassen in der Kälte ist erlaubt. Zuviel Säure führt zu einer störenden Aussalzung. Das Gemisch wird zentrifugiert und das Präzipitat in gerade so viel NaOH ½n aufgelöst, daß eine klare Lösung entsteht, deren Volumen (d) bestimmt wird.

4. *Extinktionsbestimmungen und Berechnung.* Nach Zufügen einer Spur von $Na_2S_2O_4$ (Übergang von bräunlichem Ferricytochrom in das rosafarbene Ferrocytochrom) und kräftigem Mischen wird die Extinktion (E) bei der Wellenlänge 550 mμ und 560 mμ bestimmt. Die Konzentration in mg% bezogen auf Frischgewebe wird berechnet nach der folgenden Formel:

$$\text{Cytochrom } c \text{ in mg\%} = (E^{550}-E^{560}) \cdot 55{,}6 \cdot \frac{d \cdot b}{a \cdot c}.$$

Um den durch den Quarzsand verursachten Fehler zu korrigieren, muß von b das verwendete Sandvolumen, unter Abzug der von ihm aufsaugbaren Flüssigkeit, abgezählt werden.

Diskussion

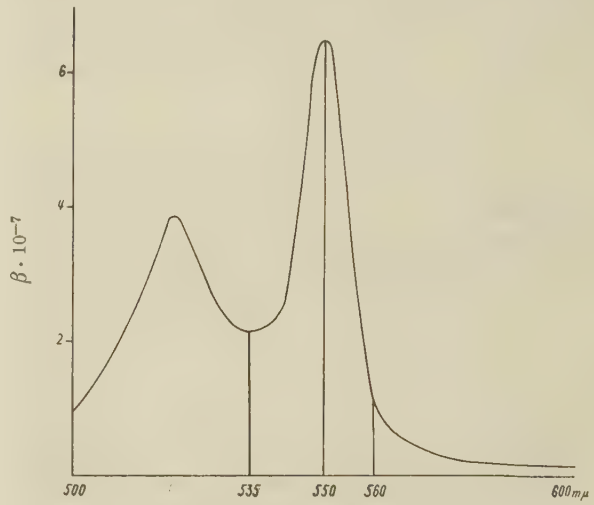
Das Gewebe darf maximal 20 Stunden im Kühlschrank aufbewahrt werden. Nach dieser Zeitspanne sinkt der Cytochromgehalt. Wichtig ist die gründliche mechanische Eröffnung der Zellen. Wir haben mit Quarzsand[4] wie auch mit wiederholtem plötzlichem Gefrieren gute Erfahrungen gemacht.

In der chemischen Extraktion folgen wir der ursprünglichen Methode von Fujita[5]. Da das für die Extraktion maßgebende p_H vom Wasserzusatz kaum beeinflußt wird, braucht dieser nicht in einem bestimmten Verhältnis zu erfolgen.

Für die einwandfreie spektrophotometrische Bestimmung müssen die Pigmente, deren Absorptionsstreifen in den gleichen Spektralbereich fallen wie die Absorptionsstreifen von Cytochrom c, entfernt werden. Auch hierin folgen wir der japanischen Methode, indem wir den Großteil der Proteine in $(NH_4)_2SO_4$ 25% ausfällen. Bei sorgfältiger Durchführung dieses Arbeitsganges wird Hämoglobin und Myoglobin restlos entfernt. Die erhaltene Lösung ist klar. Nur bei Verarbeitung von Leber und von Magenschleimhaut bleibt eine meist auch in der Endlösung auftretende Trübung, die auf Glykogen und Glykoprotein zurückgeführt wird[6].

[1] E. Stotz, J. biol. Chem. *131*, 555 (1939).
[2] V. R. Potter und K. P. Dubois, J. biol. Chem. *142*, 417 (1942).
[3] M. W. Crandall und D. L. Drabkin, J. biol. Chem. *166*, 653 (1946).
[4] C. Lichtenthaeler, Dissertation, Lausanne 1944.
[5] A. Fujita, T. Hata, J. Numata und M. Ajikasa, Biochem. Z. *301*, 376 (1939).
[6] O. Rosenthal und D. L. Drabkin, J. biol. Chem. *143*, 437 (1943).

Für die Leber kann dies vermieden werden, indem man das Tier 15 Stunden hungern läßt. Interessanterweise erhält man innerhalb gewisser Grenzen um so höhere Werte, je länger das Tier gehungert hat. Dies erklärt z. T. die außerordentlich verschiedenen Leberwerte der Literatur. Cytochromangaben für die Leber haben nur dann Vergleichswert, wenn die Dauer der Hungerperiode oder der Glykogenspiegel mit angegeben wird.



Absorptionsspektrum von Ferrocytochrom c
(auf Grund der von Theorell gegebenen Werte β).

Früher haben wir Cytochrom c mit Aceton ausgefällt[1]. Da damit nicht alles Cytochrom erfaßt wird, die Abtrennung des Präzipitates schwierig ist, und Acetatreste im nachfolgenden alkalischen Milieu Cytochrom zerstören können, verwenden wir in Anlehnung an die amerikanischen Arbeiten[2,3] CCl_3COOH 8–12%. Bei höherer Konzentration fallen Ammonsalze aus, die ein einwandfreies photometrisches Arbeiten durch starke Trübung der Lösung verunmöglichen. Mit dem Cytochrom werden noch weitere Proteine gefällt, die der Behandlung mit $(NH_4)_2SO_4$ entgangen sind. Diese werden am einfachsten zusammen mit Cytochrom in genügend NaOH in Lösung gebracht. Bei geringem Cytochromgehalt kann die Verdünnung so groß werden, daß die Extinktionsdifferenz kaum mehr meßbar ist. In solchen Fällen wird die Endlösung eingeengt durch Auflösen des Präzipitates in nur 1–2 cm³ NaOH und Entfernen der nicht gelösten Begleitproteine durch zentrifugieren[3]. Geringe Verluste sind dabei nicht zu vermeiden.

[1] A. Gonella, Dissertation, Lausanne 1943.
[2] V. R. Potter und K. P. Dubois, J. biol. Chem. *142*, 417 (1942).
[3] O. Rosenthal und D. L. Drabkin, J. biol. Chem. *143*, 437 (1943).

Die Endlösung besitzt meist noch eine durch Verunreinigung, seltener durch Trübung bedingte Basisabsorption. Für die quantitative Bestimmung kann deshalb nicht die absolute Extinktion, sondern nur eine cytochrom-c-spezifische Extinktionsdifferenz verwendet werden. Die Extinktionsdifferenz zwischen Ferri- und Ferrocytochrom[1,2] hat den Nachteil, daß die optischen Eigenschaften der Lösung sich durch Zuführen des Reduktionsmittels oft verändern, und daß die Absorption der Ferriform stark p_H-abhängig ist[3]. Günstiger ist die Extinktionsdifferenz der Ferroform zwischen zwei verschiedenen Wellenlängen. Gonella[4] wählte 550 mμ und 560 mμ, Rosenthal und Drabkin[5] 550 mμ und 535 mμ (vgl. Absorptionskurve). Wir folgen der Methode von Gonella. Sie besitzt den Vorteil der größeren Extinktionsdifferenz, und die näher beieinander liegenden Wellenlängen werden von einer allfälligen Basisabsorption weniger beeinflußt. Sie hat den Nachteil, daß der eine Meßpunkt in einer absteigenden Linie liegt, was ein sorgfältiges Arbeiten erfordert. Für die abgelesene Extinktionsdifferenz gilt:

$$E^{550} - E^{560} = \left(\varepsilon_{\text{mol}}^{550} - \varepsilon_{\text{mol}}^{560}\right) \cdot C_{\text{mol}}$$

Daraus ergibt sich für die Konzentration in mg%:

$$C_{\text{mg\%}} = \frac{E^{550} - E^{560}}{\varepsilon_{\text{mol}}^{550} - \varepsilon_{\text{mol}}^{560}} \cdot \textit{Mol.-Gew.} \cdot 10^5$$

[1] V. R. Potter und K. P. Dubois, J. biol. Chem. *142*, 417 (1942).
[2] A. Fujita, T. Hata, J. Numata und M. Ajikasa, Biochem. Z. *301*, 376 (1939).
[3] H. Theorell und A. Åkesson, Science *90*, 67 (1939); J. Am. Chem. Soc. *63*, 1804 (1941).
[4] A. Gonella, Dissertation, Lausanne 1943.
[5] O. Rosenthal und D. L. Drabkin, J. Biol. Chem. *143*, 437 (1943).

ε_{mol} wird durch Division der von Theorell[1] gegebenen Absorptionskonstanten ($\beta^{550} = 6{,}47 \cdot 10^7$; $\beta^{560} = 1{,}1 \cdot 10^7$) mit 2,3 erhalten. Molekulargewicht = 13000[2]. Die Berücksichtigung von Ausgangsmenge und Menge der Schlußlösung sowie des weggelassenen Geweberückstandes führt zu der in der Methode angegebenen Schlußformel. Es wird dabei die nur annähernd richtige Annahme gemacht, daß nach der Zentrifugation des Gewebebreies Cytochrom zwischen überstehender Flüssigkeit und Rückstand gleichmäßig verteilt ist.

Doppelbestimmungen ergaben maximal 10% voneinander abweichende Werte. Dem Gewebebrei zugesetztes Cytochrom konnten wir im Mittel zu 90% zurückgewinnen. Die Verluste treten zum größten Teil bei der Hämoglobinentfernung auf, da die ausgefällte Proteinmasse offenbar geringe Cytochrommengen mitreißt.

Die aus der Tabelle ersichtlichen Unterschiede zwischen unseren Werten und den Werten anderer Autoren sind wohl nicht nur auf die Methodik, sondern auch auf die verschiedene Ernährung (Eiweiß) zurückzuführen.

A. Prader und A. Gonella

Medizinische Poliklinik der Universität Lausanne, den 26. Juli 1947.

Summary

Technique and discussion of a spectrophotometric method to determine cytochromec. Normal values of rabbits and rats.

[1] H. Theorell, Biochem. Z. *285*, 207 (1936).
[2] H. Theorell und A. Åkesson, Science *90*, 67 (1939); J. Am. Chem. Soc. *63*, 1804 (1941).

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Johann Heinrich Lambert

Mathematische Werke, 1. Bd.
(Arithmetik, Algebra, Analysis I)

Herausgegeben von Andreas Speiser. 358 S., 8°

(Orell Füßli, Zürich 1946) (In Leinen Fr. 25.—)

Die Stiftung Schnyder von Wartensee hat es ermöglicht, durch die Herausgabe der gesammelten Werke des elsässisch-schweizerischen Mathematikers Lambert endlich einer Ehrenpflicht zu genügen. Die Opera Lamberts erstrecken sich von der Philosophie über Mathematik, Physik und Astronomie bis zur Architektur. Die Edition der Werke dieses universalen Gelehrten aus dem 18. Jahrhundert beginnt mit dem ersten Teil der Arbeiten aus Analysis, Arithmetik und Algebra.

Der Herausgeber hat in einer Vorrede die 16 zum Abdruck gebrachten Abhandlungen einer so weitgehenden Analyse unterzogen, daß dem Leser alle Voraussetzungen für das Verständnis der Ableitungen Lamberts geboten sind. Literaturzitate und Korrekturen zum Text werden in Marginalnoten gebracht, wobei die große Zahl der Rechenfehler, die Lambert begangen hat, auffällt.

Der vorliegende Band beginnt mit dem Eloge auf Lambert, die Formey 1777 in der Berliner Akademie gehalten hat. Außer der nachfolgenden Abhandlung, *Observationes variae in Mathesin puram*, welche die merkwürdige Formel Lamberts für die Potenzsummen enthält, die u.a. eine allgemeine Reihenentwicklung für die Wurzel von $x^m + px = q$ liefert, stammen die übrigen 15 Arbeiten aus dem vierbändigen Sammelwerk *Beyträge zum Gebrauche der Mathematik und deren Anwendung* (Berlin 1765 bis 1772). Sie gehören zum größten Teil der angewandten Mathematik an, wenn auch Lambert sich dabei immer von allgemeineren Gesichtspunkten leiten läßt. So sucht er in seinen *Anmerkungen und Zusätze zur Trigonometrie* nicht nur die Formeln der sphärischen Trigonometrie für die numerische Rechnung brauchbar zu gestalten, sondern sie nach einem — heute gruppentheoretisch formulierbaren — Prinzip zu klassifizieren. Besonders originell sind seine numerisch-graphischen Arbeiten über Quadratur und Rektifikation sowie über Interpolation. Mit reiner Mathematik befassen sich nur zwei Abhandlungen über Primzahlzerlegung – wobei Lambert die heute allgemein übliche Form der Teilertafeln angegeben hat – eine Arbeit über Kettenbrüche und eine über die allgemeine Auflösung der Gleichungen.

Die Ausgabe der Werke LAMBERTS ist sehr gefällig, vielleicht durch ihre Handlichkeit im Oktavformat ein wenig zu gefällig für den bisherigen Geschmack, der voluminöses Quartformat bei Operaeditionen gewohnt ist.

J. O. FLECKENSTEIN

Heaviside's Operational Calculus Made Easy

By T. H. TURNEY

102 pp., 33 Figs. (Chapman & Hall, London, 1946) 2nd edition. (Price 10*s* 6*d*.)

T. H. TURNAY führt den Leser in einfacher, verständlicher und unterhaltender Art und Weise in die HEAVISIDEsche Operatorenrechnung ein. Mathematische Kenntnisse werden nur sehr wenige vorausgesetzt. Das Büchlein ist vor allem für den jungen Studenten der Ingenieurwissenschaften bestimmt.

Nach der Einführung in die Operatorenrechnung und dem Entwicklungssatz von HEAVISIDE werden einige einfache Beispiele aus der Theorie der elektrischen Leitungen behandelt und zum Schluß der Zusammenhang der Operatorenrechnung mit den FOURIER-Integralen und der LAPLACE-Transformation diskutiert.

E. BALDINGER

X-Rays in Research and Industry

By H. HIRST

124 pp., 82 Figs. (Chapman & Hall, London 1946) 2nd edition. (Price 13*s* 6*d*.)

Dieses Buch, das in knapper Form einen guten Überblick über die Anwendungen der Röntgenstrahlen in der Industrie und der Metallurgie bietet, geht auf eine Vorlesung des Verfassers aus dem Jahre 1941 zurück, die H. HIRST an der Universität Melbourne gehalten hat. Nach einer kurzen Einführung über die Entstehung der Röntgenstrahlen, den Aufbau der Kristalle, die verschiedenen Methoden der Kristalluntersuchung (LAUE, BRAGG, DEBYE-SCHERRER) werden folgende Anwendungen behandelt: Untersuchung von Legierungen, Bestimmung der Korngröße, anisotropes Verhalten verformter Materialien und industrielle Radiographie.

Obwohl in einem für die Praxis bestimmten Buch die Einleitung über die Entstehung der Röntgenstrahlen weniger wichtig ist, sollte sie dennoch in allen Teilen physikalisch richtig sein. Vom Abschnitt über Bremsstrahlung kann dies leider nicht behauptet werden. Ferner wirkt es störend, daß noch der alte Wert der Elementarladung benutzt wird.

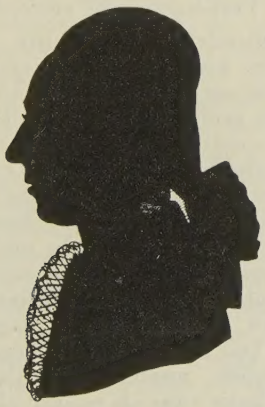
E. BALDINGER

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

EXPERIENTIA MAJORUM

Kaspar Friedrich Wolff in Rußland

Als ein enttäuschter Mann reiste KASPAR FRIEDRICH WOLFF im Frühling des Jahres 1767 von Lübeck aus nach Petersburg ab. Er verließ die Heimat, weil weder seine entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen noch sein erfolgreicher medizinischer Unterricht in Breslau und Berlin ihm Anerkennung verschafft hatten. Nachdem gar eine Bewerbung um eine Professur am Berliner medikochirurgischen Institut «mit Verweisen abgeschlagen» worden war, bot dem Dreiunddreißigjährigen der Ruf an die Russische Akademie der Wissenschaften eine letzte Hoffnung auf ein Tätigkeitsfeld, das seiner Befähigung entsprach. Die Aussicht auf ein bescheidenes Gehalt von jährlich 800 Rubel vermochte den durch seine kostspieligen embryologischen Untersuchungen in finanzielle Bedrängnis geratenen Gelehrten in die ungewisse Zukunft zu locken.



KASPAR FRIEDRICH WOLFF
nach einer Silhouettenzeichnung von ANTING. Das Original befindet sich im Archiv der Akademie der Wissenschaften der UdSSR.

Bald wurde Rußland WOLFF zur zweiten Heimat. Er verbrachte in St. Petersburg volle 27 Jahre bis zu seinem Tode am 22. Februar 1794. WOLFF hatte dort in der Stellung eines ordentlichen Mitgliedes der Akademie das anatomische Kabinett der «Kunstkammer» und das Anatomische Theater zu betreuen; etwas später übernahm er dazu noch die Leitung des Botanischen Gartens. Weitaus die meiste Zeit verwandte er auf die anatomische Bearbeitung der teratologischen Sammlung der Akademie; die früher mit Eifer gepflegten embryologischen Untersuchungen stellte WOLFF dagegen in Rußland vollkommen ein. Seine erste, in Petersburg gedruckte Arbeit war zwar noch der Darmentwicklung beim Hühnchen gewidmet (*De formatione intestinorum etc.* Novi Comm. Acad. Sci. Petropol. T. XII, XIII, 1768–69), sie basierte aber auf früher in Berlin angestellten Untersuchungen. Diese «größte Meisterarbeit, die wir auf dem Felde der beobachtenden Naturwissenschaften kennen» (K. E. v. BAER), blieb merkwürdigerweise bei den Zeitgenossen vollständig unbeachtet, bis sie von JOH. FR. MECKEL durch eine kommentierte deutsche Übersetzung der Vergessenheit entrissen wurde (*Über die Bildung des Darmcanals im bebrüteten Hühnchen.* Halle 1812). In dieser Arbeit geht WOLFF von Beobachtungen an Pflanzen aus, die

hier nicht ausführlich geschildert werden können. Sie führten ihn zur Lehre von der Metamorphose, die später so glänzend durch Goethe (1790) verteidigt wurde. Wolff stellte des weiteren die Prinzipien der Hühnchenentwicklung fest und begründete die Ideen, die dann von Pander (1817) und Baer (1827) zu der Keimblatttheorie ausgearbeitet wurden.

Wolff sprach in seiner Arbeit von einer *vis essentialis*, die nur der lebenden Substanz eigen sei, die aber an sich nichts Übernatürliches bedeute, wie etwa der Animismus von Stahl oder die Lebenskraft von Albinus; er sah darin nur den Ausdruck einer allgemeinen natürlichen «anziehenden und abstoßenden Kraft». Wolff ist also keineswegs ein reiner Vitalist, als den man in häufig ansieht, aber auch nicht ein eingeschworener Mechanist. Er hatte ja schon in seiner Dissertation die *medicina mechanica* angegriffen, indem er sich gegen die Auffassung des menschlichen Körpers als einer Maschine energisch auflehnte. Ebenso verwarf er den Versuch, die Lebensvorgänge allein aus der Lage und dem Bau einzelner Teile (*ex figura et modo compositionis partium*) abzuleiten und sie so zu verstehen.

Die weiteren im Druck vorliegenden Arbeiten Wolffs aus der Petersburger Zeit sind vorwiegend anatomischen und teratologischen Inhalts; ein vollständiges Verzeichnis davon findet man im 12. Band der Nova Acta Acad. Sci. Petropol. (1801, S. 8–10). Schon ein kurzer Blick in diese Arbeiten zeigt, daß Wolff ein außerordentlich feiner Beobachter war; er wußte auch seine Befunde in beschwingter Sprache darzustellen, so etwa, wenn er den Verlauf eines Nerven als von höchster Eleganz (*summa elegantia*) bezeichnete oder wenn ihm die Eingeweide in ihrem Bau und ihren gegenseitigen Lagebeziehungen große Schönheit (*pulchritudo*) offenbarten. Mit dem Titel seien aus der 37 Nummern umfassenden Liste von Wolffs Petersburger Arbeiten nur zwei angeführt: *Descriptio vituli bicipitis, cui accedit commentatio de ortu monstrorum* (Novi Comm. T. XVII, 1772) und *De inconstantia fabricae corporis humani* (Acta 1778, S. 2). Diese beiden Untersuchungen werden hier deshalb besonders genannt, weil Wolff darin Fragen der Vererbung und der Variabilität berührt, denen er später eine ganze Reihe weiterer Studien widmete, die jedoch nie publiziert worden sind.

Wolffs wissenschaftlicher Nachlaß, der sich bei näherem Betrachten nicht nur als umfangreich, sondern auch als äußerst interessant erwies, lag fast völlig vergessen in den Archiven der Petersburger Akademie, bis er vor kurzem von B. E. Raikow wiederentdeckt und gründlich durchstudiert wurde (B. E. Raikow, *Očerki po istorii evolutionnoi idei w Rossii do Darwina* (Skizzen zur Geschichte der Evolutionsidee in Rußland vor Darwin) Akad. d. Wiss. U.d.S.S.R., Leningrad 1947, russisch). Zwar hatten schon die Akademiker F.F. Brant und K. E. v. Baer in den dreißiger Jahren des vergangenen Jahrhunderts das Studium des Nachlasses von Wolff begonnen, aber die geplante Veröffentlichung seiner Werke wurde aus unbekannten Gründen nie verwirklicht. Am 20. März 1846 hielt K. E. v. Baer einen Vortrag in der Akademie über die handschriftlichen Notizen Wolffs, auch veröffentlichte er nachträglich darüber in den Annalen der Akademie einen umfangreichen Aufsatz in deutscher Sprache. v. Baer kam zum Schluß, daß der Hauptinhalt der Wolffschen Manuskripte in der anatomischen Beschreibung der Mißgeburten der akademischen Sammlung besteht. Er pries die Genauigkeit der Wolffschen Beobachtungen wie auch seine feine Technik, verhielt sich aber gegenüber den theoretischen Auswertungen Wolffs eher skeptisch; zwar fand er sie «immer anregend», hielt aber ihre Veröffentlichung für überflüssig.

Nach v. Baer befaßte sich niemand mehr mit den Wolffschen Notizen, bis B. Raikow, wie oben erwähnt, die große Mühe auf sich nahm, die mit kleiner, oft fast unleserlicher Handschrift in lateinischer Sprache verfaßten Manuskripte zu entziffern. Dieses zeitraubende Studium erwies sich bald als lohnend. Wolffs Werk erstand vor dem russischen Gelehrten in einem ganz neuen, ungeahnten Lichte, Wolff erwies sich als kühner und konsequenter Verteidiger der Evolutionstheorie (im heutigen Sinne des Wortes), als ein Vorgänger von Lamarck und Darwin. Seine Ideen, die 150 Jahre vergessen im Staube der Archive verborgen blieben, überraschen uns durch ihre «Modernität»; auf alle Fälle stehen sie der heutigen Wissenschaft näher als die des großen Franzosen.

Wie schon v. Baer richtig bemerkt hat, bilden die anatomischen Untersuchungen der Mißgeburten der Petersburger akademischen Sammlung den Hauptinhalt der Wolffschen Manuskripte. Mit größter Sorgfalt und Genauigkeit beschreibt Wolff z. B. das Gehirn eines zweiköpfigen Kalbes; er bezeichnet es als «allerschönstes» (*egregium atque pulcherrimum monstrum*) und widmet ihm 50 handschriftliche Seiten. Die Beschreibung eines Zwillingspaares mit zusammengewachsenen Rümpfen und Köpfen nimmt 230 Seiten in Anspruch. Ihr folgen noch andere mehr, so daß im ganzen ein stattliches, von Raikow auf wenigstens 1000 Seiten geschätztes Werk vorliegt. Wolff begnügte sich aber nicht mit der rein pragmatischen Beschreibung der anatomischen Befunde, er suchte sie auch zu deuten. So widmet er sein Manuskript *Objecta meditationum pro theoria monstrorum*, das unvollendet geblieben ist und den Charakter einer vorläufigen Mitteilung trägt, solchen theoretischen Erwägungen. Diese große Arbeit ist in drei Teile gegliedert. Im ersten, *Observatio propagativae facultatis* benannten Abschnitt befaßt sich der Autor mit dem Problem der Vererbung einzelner Merkmale. Er sucht den Mechanismus der Vererbung zu ergründen und greift die Vererbungstheorie von Buffon heftig an, die er als dunkel und irrig bezeichnet. Der zweite Teil, *De mutilitate et propagabilitate*, ist der Frage der Variabilität und ihrer Vererbung gewidmet. Wolff berührt hier auch das Artproblem, wie es damals von verschiedenen Gelehrten aufgefaßt wurde. Schließlich ist im dritten Teil, *De constantia generum speciorumque verarum et de varietatum ortu et formatione continuatio*, weiter die Rede vom Artproblem, nur wird diese Frage ausführlicher betrachtet und mit verschiedenen Ergänzungen und Verbesserungen versehen.

Diesem unvollendeten Manuskript schließen sich noch zwei einzelne Aufsätze an: *Ad explicationem qualificationis materiarum vegetabilium* und *Conjectura de materia vegetabili qualificata in animalibus*. Eine dritte Abhandlung, *De variis propagabilitatis rationibus*, ist nach wenigen Zeilen abgebrochen. Im Wolffschen Nachlaß findet sich ferner noch ein kleines, aber sehr wichtiges Manuskript, *Distributio operis*, aus dem ersichtlich ist, daß Wolff die Absicht hatte, ein umfassendes Werk über seine *Theoria monstrorum* zu schreiben. Es war zweiteilig geplant, da dem deskriptiven ein «physiologischer» – wir würden heute sagen «allgemeinbiologischer» – Teil in 6 Kapiteln folgen sollte. Auch dieses Werk blieb unvollendet. Der anatomisch-deskriptive Teil kann zwar als nahezu abgeschlossen betrachtet werden, vom «physiologischen» sind jedoch nur das 2.–4. Kapitel mehr oder weniger fertig niedergeschrieben. Im 2. Kapitel wollte Wolff seine *Theoria*

generationis von neuem aufgreifen und sie in klarer, leicht zugänglicher Sprache schildern. Er beabsichtigte auch, die Polemik, die sich zwischen ihm, BONNET, HALLER, SULTZER u. a. entsponnen hatte, ausführlich darzulegen. Aus dem Text wird ersichtlich, daß WOLFF in einem nicht auf uns gekommenen Aufsatz, *Remarques sur les ouvrages de Bonnet*, schon früher seine Entgegnungen an diesen niedergeschrieben hatte.

Da die Manuskripte WOLFFS zumeist den Charakter einer Arbeit *in statu nascendi* tragen, wobei der Autor sich noch wenig um die definitive Anordnung seiner Gedanken kümmerte, wird ihr Verstehen nicht leicht. Noch schwieriger wird das Entziffern durch zahlreiche Randbemerkungen (*Scholiae*), die ihrerseits Notizen 2., 3. und sogar 4. Ordnung nach sich ziehen. Klar lehrt indessen das Studium dieses Werkes, daß WOLFF seine Idee der Epigenese nicht nur in onto-, sondern auch in phylogenetischem Sinn aufgefaßt hat. Er lehnte entschieden die Theorie der Unveränderlichkeit (*Theoria stabilata*) wie auch die «frommen» LINNÉschen Arten (*Linnaei pia genera*) ab und glaubte an eine «Evolution», an eine Entstehung der Arten im DARWINschen Sinne.

In der Natur walten nach Auffassung WOLFFS zwei Prinzipien: einerseits die sehr weitgehende Veränderlichkeit (*mutabilitas*), andererseits die ihr entgegenwirkende Beharrung (*constantia, tenacitas*). WOLFF trennte deutlich die unvererbbaren Veränderungen (unsere «Modifikationen», die er als *variationes* bezeichnete) von den auf die Nachkommenschaft übertragbaren Veränderungen (unsere «Mutationen»), für die er keine besondere Benennung gebraucht. Ihm war sehr gut bekannt, daß die Variationen in der Natur sehr häufig und weit verbreitet sind, und daß sie unter der unmittelbaren Einwirkung der Umwelt (Licht, Wärme, Luft, Feuchtigkeit, Nahrung usw.) entstehen. So erwähnt er einige Pflanzenarten, die – von St. Petersburg nach Sibirien versetzt – dort als Anpassung an die neuen Existenzbedingungen eine andere Form annehmen; an den früheren Standort zurückgebracht, verlieren sie dieses neue Aussehen und nehmen ihren ursprünglichen Habitus wieder an; mit anderen Worten: es entstanden Modifikationen (Somationen von PLATE), nicht aber dauerhafte Artveränderungen (*cum species perpetuo eadem maneat forma variet pro varia quam ubi resident terra*). Das Prinzip der Veränderlichkeit stößt hier auf das des Beharrens. Demgegenüber gibt es sicher auch auf die Nachkommenschaft übertragbare Veränderungen, z. B. die Sechsfingrigkeit; solche Veränderungen treten einmalig (*semel*) auf und werden sofort konstant, d. h. vererbbar.

WOLFF nahm eine besondere Vererbungssubstanz an, eine *materia qualificata*, die nicht nur jedem Organismus seine spezifischen Eigenschaften verleiht, sondern auch die erbliche Reinerhaltung der Art bedingt. Er dachte dabei weniger an irgendeine materielle Grundlage des Vererbungsphänomens, obgleich er doch gewisse Keimteilchen anzunehmen bereit war, als an ein «physiologisches», d. h. allgemein-biologisches Geschehen. Nur diejenigen Veränderungen können nach der Meinung WOLFFS auf die Nachkommenschaft übertragen werden, die das Erbgut, seine *materia qualificata*, in ihrem Kern treffen. Die übrigen Einwirkungen sind rein somatischer Natur und deshalb nicht von Dauer. Hier treffen wir also zum ersten Male den Gedanken vom Geno- und Phänotypus.

Auch den Artbegriff suchte WOLFF genauer zu definieren. Die Art ist für ihn nicht nur eine taxonomische Einheit, sondern etwas Reelles. Trotz der sehr weitgehenden Artvariabilität, einer gewissen Somalabilität, bleibt doch eine «echte» Art konstant; das beharrende Prinzip sorgt für die Arterhaltung (*constantia est, quae genera et species suppeditat*); ihr Wesen bleibt uns aber verborgen.

In den Mißbildungen sah WOLFF vorzügliche Beispiele für das Zusammenwirken des Beharrungs- und des Veränderungsprinzips. Er meinte, daß die Mißbildungen größtenteils nicht als Resultat äußerer Einflüsse, sondern aus inneren Gründen entstehen. Einige teratologische Phänomene erscheinen plötzlich und werden sofort erblich; so stellt sich WOLFF auch die natürliche Entstehung von neuen Arten vor. *Monstra sunt eiusmodi tentamina naturae.*

Interessant ist zu bemerken, daß WOLFF auf Grund seiner teratologischen Untersuchungen auch psychologische Probleme berührt und in seinen Scholien den Versuch macht, eine «Seelentheorie» – allerdings in sehr gedrängter Form – zu entwickeln. Die Seele sei eine Art von «Extrakt des Gehirns» (*extractum fieri puto cerebri et substantiae medullaris corporis universi, quod sit anima*), wie das Ei ein «Extrakt des ganzen Huhns». Die Seele existiere nicht vor dem Körper, sie wird mit ihm zusammen geboren (*nec praeexistare ei*). Es hätte zu weit geführt, hier diese naive Theorie ausführlicher zu schildern, der Verfasser hat sie ja auch nur skizziert. Indessen soll hervorgehoben werden, daß die kühnen Auffassungen WOLFFS im schroffen Widerspruch zu den damals herrschenden Ideen standen; sie wurden von der wissenschaftlichen Welt als ketzerisch abgelehnt. So wollte HALLER die Theorie der Epigenese schon deswegen nicht anerkennen, weil sie nach seiner Meinung die Prinzipien der Religion untergräbt. Alle Annäherungsversuche WOLFFS wurden von dem berühmten Physiologen abgelehnt, und WOLFF mußte, wie eingangs erwähnt, nach Rußland ziehen, um der allgemeinen Verfolgung zu entgehen. Aber auch in der neuen Heimat mußte WOLFF Schweigen bewahren, er durfte seine Gedanken nur in den lateinisch verfaßten Manuskripten niederlegen. Selbst noch lange nach seinem Tode blieb WOLFF unverstanden. K. E. v. BAER z. B. bezeichnete dessen Gedankengut als «ein mühsames Drehen im Kreise» und hielt die WOLFFschen Manuskripte nicht für druckwürdig. Erst in allerjüngster Zeit ist dank den mühevollen Studien RAIKOWS die gewaltige Gestalt des Denkers WOLFF wieder vor unseren Augen erstanden, den wir mit vollem Recht als einen der bedeutendsten Vorgänger der großen Evolutionisten LAMARCK und DARWIN bezeichnen müssen.

V. SCHÜTZ

IN MEMORIAM

Max Planck
(1858—1947)

MAX PLANCK est mort le 4 octobre 1947. Avec lui, c'est toute une période de la physique qui disparaît.

Il vit le jour le 23 avril 1858 à Kiel. Vers sa neuvième année, sa famille se fixa à Munich, où il fit ses études. Puis il se rendit pour un an à Berlin, où il subit l'influence de HELMHOLTZ, de KIRCHHOFF et de WEIERSTRASS. Mais ce qui l'enthousiasma le plus durant ce séjour, ce fut surtout la lecture des œuvres de CLAUSIUS sur les principes de la thermodynamique et ses travaux montrèrent plus tard l'importance considérable de cette influence.

Il fut cinq ans privat-docent, puis, en 1885, l'université de Kiel l'appela comme professeur. Après la mort de KIRCHHOFF, en 1889, il occupa à Berlin la chaire nouvellement créée de physique théorique.

En 1900, il publia son travail fondamental sur ce qu'on appela plus tard la loi de Planck, qui introduisit dans la physique l'idée des quanta.

En 1918, il reçut le prix Nobel et devint en 1930 président de la Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft.

Le problème qui amena Planck à la conception qui devait révolutionner la physique avait déjà été considéré par d'autres physiciens. On avait reconnu qu'une enceinte vide de matière contenait du rayonnement mais que ce rayonnement, ces radiations, cette lumière étaient indépendants de la matière formant l'enceinte, n'étant fonction que de sa température. Il restait à comprendre comment l'énergie était distribuée parmi les différentes couleurs de cette lumière. Planck donna tout d'abord une formule empirique, contenant deux constantes, décrivant parfaitement le phénomène. Frappé par la simplicité de cette formule et par sa justesse, il se dit qu'elle devait être fondamentale et, tâchant de la tirer de principes généraux, il fut amené à admettre que les «oscillateurs», les électrons des atomes de l'enceinte, agités par la température, agissant comme de petites antennes de radio et responsables de la lumière remplissant l'enceinte vide, ne pouvaient émettre ou absorber que des multiples entiers d'une énergie $h\nu$ (h = constante de Planck, ν = fréquence de l'oscillateur). Tout se passait donc comme si l'énergie était atomique, était faite de grains, de quanta. C'est ce que comprit Einstein en 1905 lorsqu'il introduisit les quanta de lumière, les photons, étendant à la lumière elle-même l'idée que Planck avait appliquée aux oscillateurs.

Il est étrange de penser que, soit Planck, soit Einstein, ne crurent jamais entièrement à leur découverte. Alors que les «jeunes» physiciens, les Bohr, Schroedinger, de Broglie, Heisenberg, Dirac comprirent, grâce aux quanta, le monde atomique et en donnèrent une image satisfaisante. Planck et Einstein essayèrent ou essaient encore de trouver d'autres explications ne pouvant accepter cette nature corpusculaire, discontinue de l'énergie.

Lumière faite de grains, lumière faite d'ondes, contradiction profonde qui gêna la physique durant 25 ans. C'est de Broglie qui eut l'idée, née de la relativité, de dire que si un grain de lumière a une énergie liée (par la constante de Planck) à sa fréquence et une quantité de mouvement liée (par cette même constante de Planck) à sa longueur d'onde, les grains de matière, les électrons ou les noyaux ont aussi des longueurs d'ondes. La contradiction subsistait, mais Schroedinger, Dirac et Heisenberg montrèrent que nos conceptions d'ondes et de particules n'étaient pas tout à fait celles des atomes, et ainsi l'on put comprendre qu'ondes et particules n'étaient que deux aspects peu précis d'une même réalité.

Cette constante de Planck est si fondamentale pour notre conception du monde d'aujourd'hui qu'il nous est difficile maintenant de comprendre combien, en 1900, les idées de Planck bouleversaient la physique. N'est-ce pas dire ainsi toute son importance, dire que son nom restera attaché à l'une des idées les plus nécessaires de la physique ?

International Rheological Congress in Holland

September, 1948.

Upon the initiative of the British Rheologists' Club an international congress on Rheology will be organized in Holland by a group of Dutch Rheologists under the sponsorship of

"The Joint Committee on Rheology of the International Council of Scientific Unions", and

"The Rheological Committee of the Royal Netherlands Academy of Sciences at Amsterdam".

The Congress will probably be held at Scheveningen in 1948 from Tuesday, September 21st till Friday, September 24th included, to be followed by some excursions. Its programme will consist of general and sectional lectures.

The subjects will cover:

(a) Theoretical and fundamental experimental problems;
(b) Industrial applications;
(c) Biological Problems.

Plasticity of crystallized materials, soil mechanics and geophysical problems will be excluded, as in the course of 1948 other international congresses will pay attention to these subjects.

The Joint Committee on Rheology of the I.C.S.U.:

J. M. Burgers	G. van Iterson, Jr.
Mme A. Dobry-Duclaux	Th. van Karman, chairman
P. Eggleton	G. W. Scott Blair
H. Eyring	R. Signer
A. Frey-Wyssling	G. I. Taylor

Delft, Julianalaan 134, October 8, 1947.

R. Rouwink,
first secretary for the Rheological Committee of The Netherlands Academy of Sciences.

Corrigenda

H. Flohn: «Stratosphärische Wellenvorgänge als Ursache der Witterungssingularitäten». Exper. *3*, Fasc. 8, p. 319:

S. 319 rechts, Zeile 12: lies «1901–1936» statt «1901–1915».

S. 319 rechts, Zeile 34: lies «Abweichung» statt «Streuung».

S. 320 links, Tabelle: Die Angaben für die 18tägige Welle 1944 sind nicht in allen Punkten voll vergleichbar und daher unvollständig; die Amplitude am Boden beträgt *7–8 mb*.

S. 321 links, Abschnitt 3, Zeile 11: lies «Hochdruckzellen» statt «Hochdruckwellen».

S. 321 rechts, Zeile 12: lies «über» statt «aber».

(Die vom Autor gewünschten Korrekturen und die von der Redaktion erbetenen Ergänzungen konnten wegen der postalischen Schwierigkeiten beim Abdruck nicht mehr berücksichtigt werden.) *Die Redaktion.*

*

P. Glees: "The Significance of the Frontal Lobe Connections in Mental Diseases", Exper. *3*, 394 (1947): p. 395, right column, line 10 from top, read "Similar studies on fewer cases" instead of "fever cases".